

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(43) 国际公布日:

2004年12月23日(23.12.2004)

PCT

(10) 国际公布号:

WO 2004/111010 A1

(51) 国际分类号⁷: C07D 217/04, A61P 25/00, 25/28

(21) 国际申请号: PCT/CN2004/000567

(22) 国际申请日: 2004年5月31日(31.05.2004)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
03129250.X 2003年6月13日(13.06.2003) CN

(71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 中国科学院上海药物研究所(SHANGHAI INSTITUTE OF MATERIA MEDICA, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) [CN/CN]; 中国上海市浦东新区张江高科技园区祖冲之路555号, Shanghai 200031 (CN)。

(72) 发明人;及

(75) 发明人/申请人(仅对美国): 南发俊(NAN, Fajun) [CN/CN]; 李佳(LI, Jia) [CN/CN]; 陈益华(CHEN, Yihua) [CN/CN]; 张亚辉(ZHANG, Yahui) [CN/CN]; 顾民(GU, Min) [CN/CN]; 张华杰(ZHANG, Huajie) [CN/CN]; 中国上海市浦东新区张江高科技园区祖冲之路555号, Shanghai 200031 (CN)。

(74) 代理人: 上海开祺专利代理有限公司(SHANGHAI KAIJI PATENT AGENT CO. LTD); 中国上海市徐汇区南丹东路60号5楼, Shanghai 200030 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护):
AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW,

BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护):
ARIPO(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

根据细则4.17的声明:

- 关于申请人在国际申请日有权申请并被授予专利(细则4.17(ii))对除美国以外的所有指定国
- 关于申请人在国际申请日有权要求该在先申请的优先权(细则4.17(iii))对下列指定国: 美国
- 发明人资格(细则4.17(iv))仅对美国

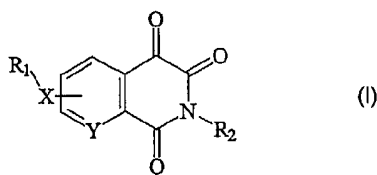
本国际公布:

- 包括国际检索报告。

所引用双字母代码和其它缩写符号, 请参考刊登在每期PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: ISOQUINOLINE -1,3,4-TRIONE, THE SYNTHETIC METHOD AND THE USE THEREOF

(54) 发明名称: 异喹啉-1, 3, 4-三酮类化合物、制备方法及其用途



(57) Abstract: The invention relates to all types of substituted isoquinoline -1,3,4-trione, the synthetic method thereof and the use for treating neurodegenerative diseases, especially as the medicine for Alzheimer's disease, apoplexy and brain ischemic injuries, the compound is represented by the following structure, Formula (I); (Dihydroisoquinoline-1,3,4-trione) wherein substituents R₁, can be one, two or three groups optionally selected from the group consisting of H; alkyl; hydroxyl; alkyl substituted by the groups including halogen, alkoxy, hydroxyl; alkyl or alkylamine substituted by the groups including halogen, alkoxy, hydroxyl; C₂₋₆alkenyl substituted by oxygen or amine; C₃₋₆cycloalkyl; substituted aryl; benzyl; alkanoyl; alkanoyl substituted by the groups including halogen, alkoxy, hydroxyl; C₂₋₆enyl; C₃₋₆cycloalkanyl; tert-butoxycarbonyl; benzoyl; benzoyl substituted by one, two or three groups including alkylamine; benzylacryl; benzylacryl substituted by one, two or three groups including alkylamine; thienylfonyl; admantylformyl; mandeloyl; alkoxy; alkylamine; cycloalkoxy; cycloalkoxycarbonyl; alkanoylxy; alkanoylamine; cycloalkanylxy; cycloalkanylamine; ureido; urenylene; alkanoyl; nitro; carboxyl; R₂ is H; alkyl; alkyl or C₁₋₄cycloalkyl which are substituted by the groups including halogen, alkoxy, hydroxyl; C₂₋₆alkenyl; acryl; substituted acryl; X is H, CH₂, NH, O, S; Y is CH, N.

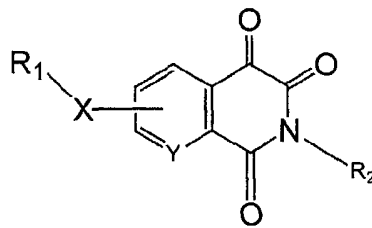


WO 2004/111010 A1



(57) 摘要

本发明涉及各类取代异喹啉-1, 3, 4-三酮化合物、合成方法及其作为治疗各种神经退行性疾病, 特别是老年痴呆症、中风、缺血性脑损伤药物的用途, 该化合物的结构式如下:



二氢异喹啉-1,3,4-三酮

其中 R_1 取代基任意选自下列基团中的一个、两个或三个: H; 烷基; 羟基; 含有包括卤素原子、烷氧基或羟基在内的取代烷基; 含有包括卤素原子、烷氧基或羟基在内的取代烷氧基或烷胺基; 氧或胺取代的 C_2-C_6 的烯基; C_3-C_6 的环烷基; 取代芳基; 苄基; 烷酰基; 含有包括卤素原子、烷氧基或羟基在内的取代烷酰基; C_2-C_6 的烯酰基; C_3-C_6 的环烷酰基; 叔丁氧羰基; 苯甲酰基; 烷胺基在内的任意一个、两个或者三个基团取代的苯甲酰基; 苄酰基; 烷胺基在内的任意一个、两个或者三个基团取代的苄酰基; 噻吩甲酰基; 金刚烷甲酰基; 扁桃酰基; 烷氧基; 烷胺基; 环烷氧基; 环烷胺基; 胺基; 酰胺基; 烷氧羰基; 环烷氧羰基; 烷酰氧基; 烷酰胺基; 环烷酰氧基; 环烷酰胺基; 脲基; 亚脲基; 烷酰基; 硝基; 羧基;

R_2 为 H; 烷基; 含有包括卤素原子、烷氧基或羟基在内的取代烷基、取代 C_1-C_4 环烷基; C_2-C_6 的烯基; 芳基; 取代芳基;

X 为 H、 CH_2 、NH、O、S;

Y 为 CH、N。

异喹啉-1, 3, 4-三酮类化合物、制备方法及其用途

技术领域

本发明涉及异喹啉-1, 3, 4-三酮类化合物、合成方法及其用途。该类化合物可作为 caspase 抑制剂和神经保护剂, 可用于治疗各种神经退行性疾病, 特别是老年痴呆症、中风、缺血性脑损伤等。

背景技术

细胞凋亡(apoptosis)是正常机体细胞在受到生理和病理性刺激后出现的一种自发的死亡过程, 它在多细胞生物的组织分化、器官发育、机体稳态的维持中有着重要的意义。机体在产生新生细胞的同时, 衰老和突变的细胞被通过凋亡机制而清除, 使器官和组织得以正常地发育和代谢。细胞凋亡也参与一些病理过程, 如肿瘤、自身免疫性疾病、病毒感染和神经退化性疾病等。由于细胞凋亡的重要意义, 所以它在生物进化过程中不但得到了保留, 而且从简单的多细胞生物线虫, 到高度进化的人类, 细胞凋亡机制还随着生物的进化得到了发展和完善。

凋亡细胞具有与坏死细胞不同的形态变化, 最显著的特点是细胞核染色质浓缩、染色体DNA断裂、细胞膜形成泡状突起。凋亡细胞膜成分与结构的改变可以被吞噬细胞表面的粘附分子及磷脂酰丝氨酸受体所识别, 从而被吞噬而降解, 所以凋亡的细胞不引起局部炎症反应, 也不引起周围组织的损伤。

细胞凋亡是一个主动的、信号依赖的过程, 可以由许多因素所诱导, 如放射线照射、毒素、药物、缺血缺氧、病毒感染等。研究发现, 这些因素大多可以通过激活死亡受体而触发细胞凋亡机制。死亡受体是近年发现的一组细胞表面标记, 属于肿瘤坏死因子受体超家族, 它们与相应的配体结合后, 可以通过一系列的信号转导过程, 将凋亡信号向细胞内部传递。这个过程涉及到多个家族的蛋白质, 包括 TNF/TNFR 超家族、TRAF 超家族、死亡结构域蛋白质等, 最终引起细胞凋亡的执行人 caspase 蛋白酶家族的活化, 这些蛋白酶剪切相应的底物, 使细胞发生凋亡。Caspase 蛋白酶家族是目前证明细胞凋亡过程中起主要作用的生物大分子。(*Apoptosis: Pharmacological Implications and Therapeutic Opportunities*; Kaufmann, S. H., Ed.; Academic Press: San Diego, 1997; *When Cells Die*; Lockshin, R. A., Zakeri, Z., Tilly, J. L., Eds.; Wiley-Liss: New York, 1998.)

caspases 蛋白酶在神经退行性疾病的发病过程中起非常重要的作用(*Cell* 75:641—652, 1993; *Science* 263:826—828, 1994)。这也许是它近年来倍受关注的原因之一。caspase-3 基因

转染昆虫 Sf9 细胞后引起细胞凋亡，这个过程可以被 BCL-2 阻断；在发生凋亡的细胞提取液中去掉 caspase-3 后，这些提取液就失去了诱导细胞凋亡的能力；再加入纯化的 caspase-3 它就又恢复了致凋亡的功能。敲除 caspase-3(CPP32)基因可阻断大脑发育过程中的神经元死亡。活化后的 caspase-3 作用于许多底物，包括细胞骨架等，最终引起细胞凋亡。已在实验性脑缺血缺氧 (Chen J, Nagayama T, Jin K, et al. *J Neurosci*, 1998, 18(13): 4914-4928; Namura S, Zhu J, Fink K, et al. *J Neurosci*, 1998, 18(10): 3659-3668.)、脑外伤[Beer R, Franz G, Srinivasan A, et al. *J Neurochem*, 2000, 75(3): 1264-1273]等多种神经系统疾病中证实 caspase-3 活性增强。在动物脑缺血模型中，用 caspase-3 抑制剂治疗可以缩小梗死体积，延长治疗的时间窗 (Ma J, Endres M, Moskowitz MA. *Br J Pharmacol*, 1998, 124(4): 756-762.)，进一步支持 caspase-3 在细胞凋亡中起重要作用。

对不同的 Caspase 在细胞凋亡过程中所起作用的深入研究受限于对不同 caspase 具有高选择性的小分子抑制剂的缺乏。(Garcia-Calvo, M.; Peterson, E. P.; Leiting, B.; Ruel, R.; Nicholson, D. W.; Thornberry, N. A. *J. Biol. Chem.* 1998, 273, 3 2608-32613.; Schotte, P.; Declercq, W.; Van Huffel, S.; Vandenabeele, P. *Beyaert, R. N. FEBR Lett.* 1999, 442, 117-121.) 尽管有各类高活性肽类抑制剂报道，但他们最多只具有中等的选择性，而且细胞通透性差，大大限制了其使用范围。所以寻找结构新颖的小分子非肽类 caspase 抑制剂，特别是选择性好抑制剂，不仅对研究各类 caspase 在凋亡过程中的机制有重要意义，而且有望发展为新型治疗各种神经退行性疾病，特别是老年痴呆症、中风、缺血性脑损伤等疾病的药物。

发明内容

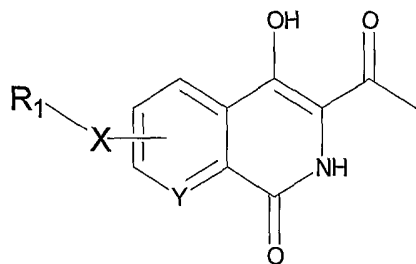
本发明目的在于提供一类结构新颖的可作为 caspase 抑制剂和神经保护剂的异喹啉-1, 3, 4-三酮类化合物。

本发明的另一目的是提供该类化合物的制备方法。

本发明的目的还在于寻找上述化合物在制备治疗各种神经退行性疾病，特别是老年痴呆症、中风、缺血性脑损伤等疾病的药物中的应用。

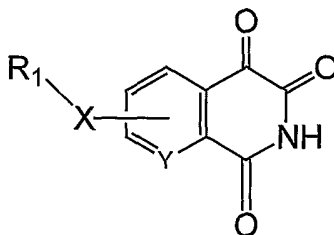
本发明采用关键的氧化脱酰反应合成异喹啉-1, 3, 4-三酮类化合物，通过改变不同官能团的取代来提高化合物的酶抑制活性和神经保护作用。

本发明通过如下结构的前体化合物 3-乙酰-4-羟基-异喹啉-1-酮类化合物



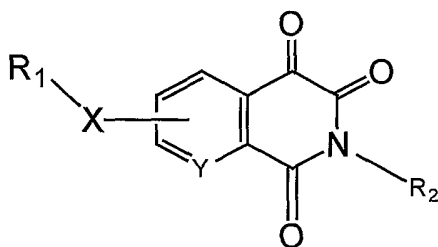
3-乙酰-4-羟基-二氢异喹啉-1-酮

合成结构式如下的异喹啉-1, 3, 4-三酮类化合物。



二氢异喹啉-1,3,4-三酮

并对上述化合物的胺基进行不同官能团的取代以进一步合成结构式如下的异喹啉-1, 3, 4-三酮类化合物。



二氢异喹啉-1,3,4-三酮

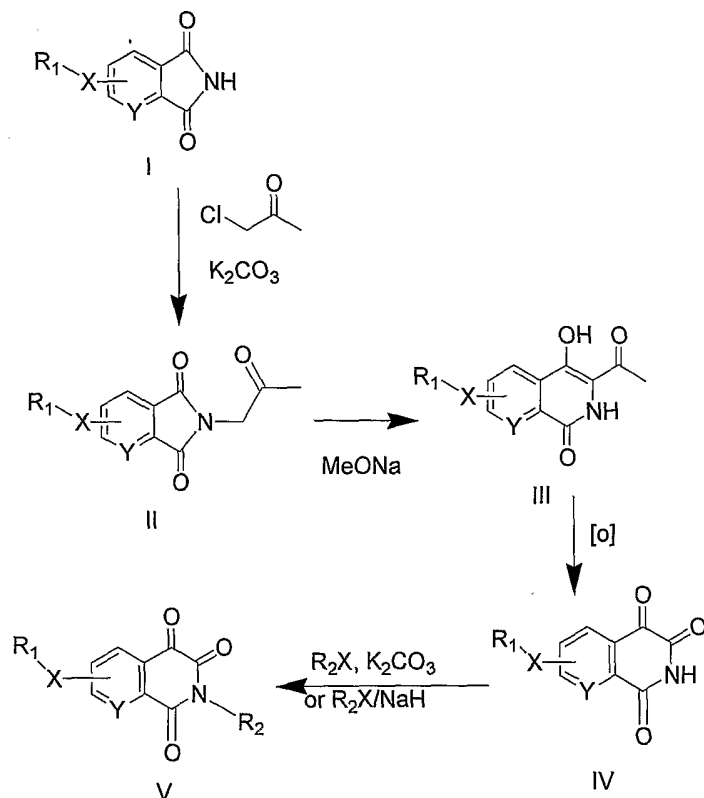
其中 R₁ 取代基任意选自下列基团中的一个、两个或三个：H；烷基；羟基；含有包括卤素原子、烷氧基或羟基在内的取代烷基；含有包括卤素原子、烷氧基或羟基在内的取代烷氧基或烷胺基；氧或胺取代的 C₂-C₆ 的烯基；C₃-C₆ 的环烷基；取代芳基；苄基；烷酰基；含有包括卤素原子、烷氧基或羟基在内的取代烷酰基；C₂-C₆ 的烯酰基；C₃-C₆ 的环烷酰基；叔丁氧羰基；苯甲酰基；烷胺基在内的任意一个、两个或者三个基团取代的苯甲酰基；苄酰基；烷胺基在内的任意一个、两个或者三个基团取代的苄酰基酰基；噻吩甲酰基；金刚烷甲酰基；扁桃酰基；烷氧基；烷胺基；环烷氧基；环烷胺基；胺基；酰胺基；烷氧羰基；环烷氧羰基；烷酰氧基；烷酰胺基；环烷酰氧基；环烷酰胺基；脲基；亚脲基；烷酰基；硝基；羧基；

R₂ 为 H；烷基；含有包括卤素原子、烷氧基或羟基在内的取代烷基、取代 C₁-C₄ 环烷基；C₂-C₆ 的烯基；芳基；取代芳基；

X 为 H、CH₂、NH、O、S；Y 为 CH、N。

本发明通过下列步骤实施：

根据化学反应式



由化合物 I 参照文献方法 (Org. Syn. CV.2, 83) 合成化合物 II, 化合物 II 在甲醇、乙醇、二甲基甲酰胺、苯、甲苯等溶剂中, 在过量醇钠的存在下发生反应得化合物 III, 化合物 III 在适当的溶剂如二甲基亚砷、二甲基甲酰胺、甲苯、等中通入空气, 经过关键的氧化脱酰反应, 在 80—120℃ 的条件下生成母体化合物 IV, 反应时间视反应物活化基团的性质而定 (或者在其它氧化条件如混酸条件下氧化得母体化合物 IV)。然后在无水溶剂例如二甲基亚砷、二甲基甲酰胺、二氯甲烷、苯、四氢呋喃、丙酮等溶剂中, 与碳酸钾 (或氢化钠) 及卤代烃反应即生成化合物 V, 反应完毕后一般用冰水淬灭, 用乙醚、乙酸乙酯、二氯甲烷、三氯甲烷等萃取, 依次用 5% 盐酸、水、饱和食盐水洗涤, 干燥, 低温减压除去溶剂, 经柱层析得最终产物, 产率视反应物 IV 和卤代烃的性质而定。从 30%—50%, 得到的产物用核磁共振、质谱等方法来证明。

下面通过药理试验说明本发明化合物的酶抑制活性和对凋亡细胞的保护作用。(具体表述试验, 包括试剂、仪器、具体试验步骤等, 另外以全称代替缩写符号)

一、本发明化合物对 caspase-3 活性的抑制作用:

1、活性 caspase-3 重组蛋白的制备:

在大肠杆菌表达系统中, 体外用 pGEMEX-I 载体, BL21(DE₃)/pLysS 菌株(Promega, Madison, WI, U.S.A.)分别表达了 caspase-3 的大小亚基(P17 和 P12)。1 升表达菌用 100ml 破胞液 (pH7.5, 含 50mM Tris.Cl, 100mM 氯化钠、2mM 乙二胺四乙酸) 洗胞三次, 菌加入破胞液和 1%Triton-100 重悬, 冰浴条件下使用超声波破菌; 4°C、12000g 离心 15 分钟, 弃上清液。P17 和 P12 两个片段都以包涵体的形式存在沉淀里; 分别以 1M、2M、4M 的尿素依次洗涤沉淀, 除去大部分的杂蛋白, 最终分别溶解在 6M 尿素、2mM 二硫苏糖醇中。使用 HiPrep16/10 QXL 阴离子交换柱和 FPLC system 进行。纯化 P17 亚基时, 过 Q 柱的溶液有 BufferA (50mM Tris.Cl pH7.2, 6M 尿素, 1mM DTT) 和 BufferB (BufferA + 1M NaCl)。用 Buffer A 平衡 HiPrep16/10 QXL 层析柱后, 注入待纯化的样品, 先用 Buffer A 洗脱; 再用 Buffer A 和 100%Buffer B 组成的线性 NaCl 梯度洗脱。在电导达到 20mS/min 时, 洗脱下一个蛋白峰。纯化 P12 亚基时, 过 Q 柱的溶液分别是 BufferA (50mM Tris.Cl pH7.8, 6M 尿素, 2mM DTT) 和 BufferB (BufferA + 1M NaCl)。用 Buffer A 平衡 Q 柱后, 注入待纯化的 P12 样品, 用 Buffer A 洗脱; 再用 Buffer A 和 100%Buffer B 组成的线性 NaCl 梯度洗脱。在电导 0mS/min 和 20mS/min 时, 各洗脱下一个蛋白峰。洗脱流速为 2ml/min, 每 2 分钟收集 1 管洗脱液。用 SDS-PAGE 验证收集组分的蛋白组成和纯度; 并根据结果和蛋白浓度曲线, 分别合并较纯的组分, 保存于 4°C。当溶液的 pH 值大于 4.9 时, P17 亚基带负电荷, 可以靠静电作用结合在 Q-Sepharose 上。随着洗脱液中盐离子浓度的增加, 结合在 Q-Sepharose 上的各蛋白成分根据静电力的强弱依次被洗脱下来, 而分离纯化得到单一条带的 P17 亚基; 当溶液的 pH 值等于 7.8 时, P12 亚基基本不带电荷, 而其它大部分杂蛋白带负电荷, 可以靠静电作用结合在 Q-Sepharose 上。P12 亚基随着待纯化的样品注入 Q-Sepharose 不与层析柱结合流出来, 杂蛋白带负电荷结合在层析柱上得以分离, 分离纯化得到单一条带的 P12 亚基。在 4°C, 纯化的 P17 亚基和 P12 亚基以 1: 1 的比例混合后, 样品与缓冲液以 1: 15 的比例逐滴加入复性缓冲液中, 搅拌过夜。复性缓冲液 (pH7.5) 中含有 50mM Tris.Cl, 100mM 氯化钠、2mM 二硫苏糖醇、10% 蔗糖、5mM 乙二胺四乙酸。复性后就得到有活性的重组 caspase-3。通过疏水柱可以除去没有形成活性 caspase-3 的 P17 亚基和 P12 亚基。

2、Caspase-3 的活性抑制反应: (Gurtu V, et al, *Analyt.Biochem.*, 1997, 251,98-102)

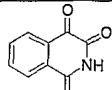
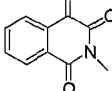
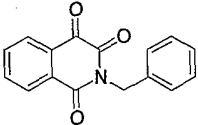
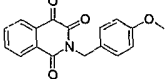
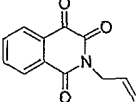
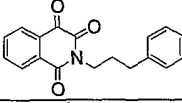
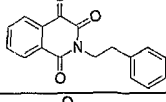
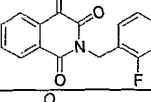
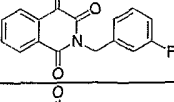
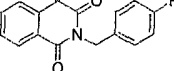
Caspase-3 的活性检测在 35°C, 50mM Tris.Cl, pH7.5, 100mM 氯化钠、10mM 二硫苏糖醇、100 μM Ac-Asp-Glu-Val-Asp-*p*-nitroaniline(Bachem Bioscience, PA, U.S.A.), 特异性底物 Ac-Asp-Glu-Val-Asp-*p*-nitroaniline 被 caspase-3 酶切后, 释放出的 *p*-nitroaniline 在 OD405nm 处有特征性光吸收, 因而根据光吸收值的变化, SpectraMAX340 可以动态的检

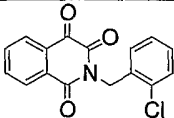
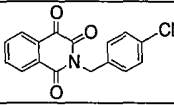
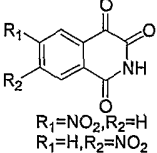
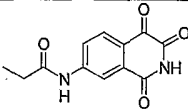
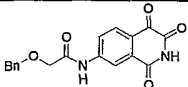
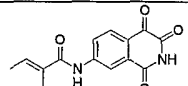
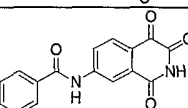
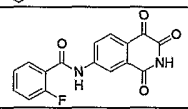
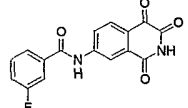
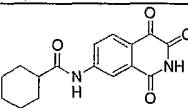
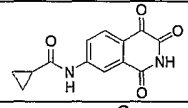
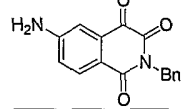
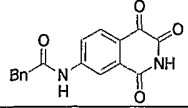
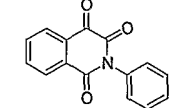
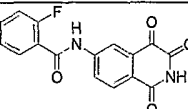
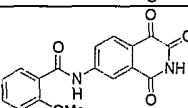
测 caspase-3 活性。Caspase-3 的活性抑制反应是在 96 孔板上, 总反应体积是 100 μ l 中进行, 其中含有 2 μ l 溶在二甲基亚砜中的待测化合物, 100nM caspase-3 酶液中进行。

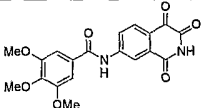
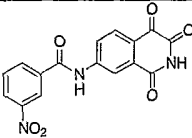
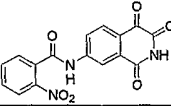
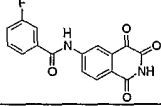
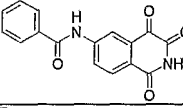
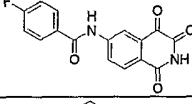
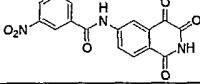
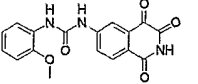
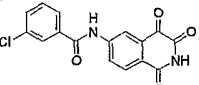
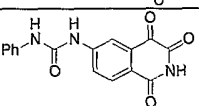
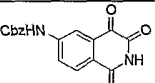
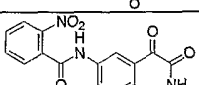
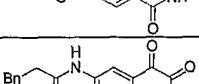
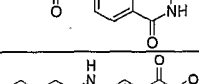
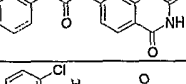
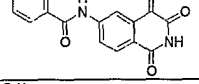
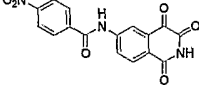
3、化合物抑制活性的检测:

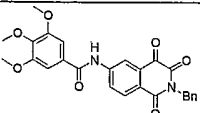
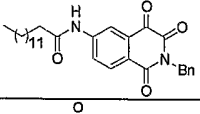
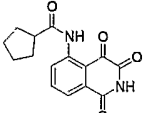
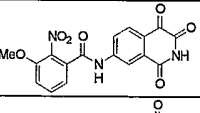
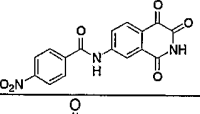
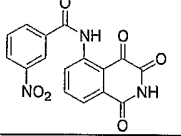
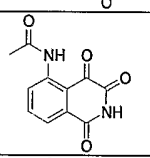
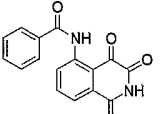
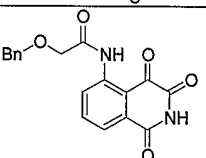
化合物以不同的母液浓度溶解在二甲基亚砜中。反应时加入 2 μ l 到 caspase-3 反应体系中, 不同浓度的化合物对 caspase-3 的活性有不同的抑制作用, 分别对应不同的活性值。以不含化合物的二甲基亚砜作为阴性对照, 以抑制剂 Ac-Asp-Glu-Val-Asp-aldehyde, (IC₅₀=34nM) (Bachem Bioscience, PA, U.S.A.)作为阳性标准对照。根据这些实验数据可以得到各种化合物对 caspase-3 的 IC₅₀ 值, IC₅₀ 值直接反应了化合物对 caspase-3 活性的抑制作用, 见表 1。

表 1 本发明部分化合物对 caspase-3 活性的抑制作用

Compound	Structure	Caspase Inhibition (IC ₅₀ , μ M)
Chen-1		0.588
Chen-2		0.896
Chen-3		1.663
Chen-4		1.634
Chen-5		1.517
Chen-6		1.168
Chen-7		3.321
Chen-8		0.803
Chen-9		1.390
Chen-10		0.522

Chen-11		0.563
Chen-12		0.685
Chen-13	 R ₁ =NO ₂ , R ₂ =H R ₁ =H, R ₂ =NO ₂	0.588
Chen-14		1.421
Chen-15		1.301
Chen-16		9.115
Chen-17		2.120
Chen-18		0.813
Chen-19		0.617
Chen-20		0.797
Chen-21		0.577
Chen-22		3.514
Chen-23		0.397
Chen-24		5.038
Chen-25		1.324
Chen-26		0.317

Chen-27		0.897
Chen-28		2.080
Chen-29		0.435
Chen-30		0.742
Chen-31		0.438
Chen-32		0.768
Chen-33		4.720
Chen-34		0.351
Chen-35		0.492
Chen-36		0.329
Chen-37		1.009
Chen-38		0.281
Chen-40		0.535
Chen-41		0.304
Chen-42		0.252
Chen-43		0.246
Chen-44		0.581

Chen-45		1.094
Chen-46		11.71
Chen-47		0.329
Zhang-3		6.259
Zhang-4		1.152
Zhang-6		0.111
Zhang-7		0.536
Zhang-8		0.361
Zhang-9		0.440

二、本发明化合物对凋亡细胞（PC12）的保护作用：

材料：caspase-3 的抑制剂以不同的母液浓度溶解在二甲基亚砜中，使用时的终浓度根据需要而定，其中二甲基亚砜的浓度在 0.5-1% 之间；阳性抑制剂 Ac-Asp-Glu-Val-Asp-aldehyde 的母液浓度是 20 μ M~ 2mM；凋亡诱导剂 β -淀粉样蛋白（A β 25-35）（购自 Sigma 公司）用蒸馏水配成 1mM 的母液使用时的终浓度时 20 μ M。

细胞的培养：PC12 细胞是由中科院药物所唐希灿惠赠，培养基是 DMEM(HG)加上 10%小牛血清，PC12 在 37 $^{\circ}$ C，5%二氧化碳的恒温培养箱中培养。细胞接种量 3 \times 10⁴/cm³ 于培养皿和 96 孔板中 12 小时加入本发明化合物，24 小时加入 20 μ M 凋亡诱导剂 A β 25-35，在不同的时间收集细胞，用于各种不同的凋亡检测方法检测本发明化合物对细胞凋亡的保护作用。

凋亡试验结果：

1、形态上的比较：

培养中的 PC12 在加入 caspase-3 的两种抑制剂：200nM Ac-Asp-Glu-Val-Asp-aldehyde 和 28 μ M chen-1，12 小时后加入 20 μ M A β 。72 小时后，在相差显微镜下，能明显观察到 PC12 在不同的处理下，形态学上有明显的差异(见图 1—6)。从图 1-6 可以看出，20 μ M A β 对 PC12 有明显的毒性，表现为细胞凋亡的典型特点。细胞聚集，细胞核收缩，失去了细胞形态特点，并出现凋亡小体。然而，caspase-3 的抑制剂则对由 A β 的神经毒性介导的 PC12 的凋亡有明显的抵抗作用。此外，1%二甲基亚砷，高浓度的 chen-1 和低浓度的 Ac-Asp-Glu-Val-Asp-aldehyde 对 PC12 细胞没有毒性作用。

2、采用四氮唑盐酶还原法 (MTT) 检测细胞的存活率

PC12 细胞培养 24 小时后加入 Caspase-3 抑制剂，8 小时后加入 A β ₂₅₋₃₅ (20 μ M) 诱导细胞凋亡。其中 Ac-DEVD-CHO 为 2 μ M；Chen-1, chen-2, chen-3 为 5 μ g/mL。37 $^{\circ}$ C 培养 48 小时后，经 MTT 法检测细胞存活率。

PC12 细胞以 5.0×10^4 /ml 接种于不同的 96 孔培养板，置于 CO₂ 培养箱内 37 $^{\circ}$ C 培养(5% CO₂, 95%空气)。在 24 小时后加入不同浓度的 Caspase-3 抑制剂，在 8 小时 20 μ M 的 A β ₂₅₋₃₅ 诱导细胞凋亡，各设三个复孔。其中 Ac-DEVD-CHO 的浓度分别是 20 μ M, 10 μ M, 5 μ M, 1 μ M, 0.5 μ M, 0.1 μ M；Chen-1 的浓度分别是 60 μ M, 30 μ M, 20 μ M, 10 μ M, 5 μ M, 1 μ M。37 $^{\circ}$ C 培养 48 小时后，经 MTT 法检测细胞存活率。

试验结果见图 7 和图 8。

3、流式细胞检测：

相同的方法处理 PC12 后，分别在不同时间收集 2×10^6 细胞，细胞沉淀用 PBR 洗两次后加入 70%的冰乙醇，吹打使细胞分散成单个，4 $^{\circ}$ C 下固定 2 小时。染色前，先以 3000rpm 离心 10 分钟，弃去上清，沉淀用 PBR 洗两次充分除去乙醇。细胞沉淀加入 DNA 染液(含有 0.1% TritonX-100, 0.1mM EDTA pH7.4, 0.01mg/ml RNase A, 50 μ g/ml 碘化丙啶)。细胞于染液中避光 4 $^{\circ}$ C 放置 30 分钟，用流式细胞仪检测细胞荧光，通过分析 DNA 含量计算凋亡细胞的百分率及周期。实验结果是由中国科学院细胞与生物化学研究所流式细胞室检测。流式细胞的结果见图 9 和图 10。

A β ₂₅₋₃₅ 作用在 PC12 细胞上分别作用 24,48,72 小时，在 DNA 含量频率直方图上可见一典型的“亚 G₁ 峰”，此峰随着 A β ₂₅₋₃₅ 作用时间延长而增大，它的凋亡率分别是 4.73%，19.91%，31.71%。在 72 小时后，不加 A β ₂₅₋₃₅ 的阴性对照和只加 Caspase-3 抑制剂的样本，其凋亡率分别为 1.89%，2.27%，2.15%，均属于正常范围；而在同时有 A β ₂₅₋₃₅ 和 Caspase-3 抑制剂存在培养基中时，即 2 μ M Ac-DEVD-CHO, 28 μ M Chen-1，它们的凋亡率分别是 4.01

%, 4.09%明显比只加 $A\beta_{25-35}$ 要小的多。从以上结果说明, 可以看出 Caspase-3 的抑制剂能明显的保护 PC12 细胞, 抵抗 $A\beta_{25-35}$ 的 $A\beta$ 的神经毒性介导的 PC12 凋亡, 而且自身在低浓度没有毒性。分析未凋亡细胞的周期, 发现 $A\beta_{25-35}$ 和 Caspase-3 抑制剂都不影响细胞周期。

4、caspase-3 活性检测:

相同处理后, 加入 $20\mu\text{M}$ 的 $A\beta_{25-35}$ 的 10 小时, 将细胞吹下并收集, 以 2000rpm 离心 10 分钟。细胞沉淀用 PBR 洗两次后加入破胞液 (50mM Tris·HCl pH 7.5, 5mM MgCl_2 , 2mM DTT, 2mM PMSF, 10ug/ml Papstatin A, 10ug/ml leupeptin); 经过四个“冻-融”周期后, 将细胞裂解液在 12000rpm, 4°C 离心 15 分钟, 取上清液用于酶和蛋白的测定。取相同质量的蛋白样品, 该反应体系总体积为 $100\mu\text{l}$, 其中含有 50mM Tris.HCl pH7.5, 10mM DTT, 0.1%CHAPS, 2mM EDTA, 100mM NaCl, $200\mu\text{M}$ Ac-DEVD-pNA。在 37°C 中反应 4 小时, 每隔 30 分钟在 SpectraMAX340 仪器中测定在波长 405nm 处的光吸收值。试验结果见图 11, 结果表明在加入 $20\mu\text{M}$ $A\beta$ 的 10 小时后, 在相同蛋白质质量的条件下, 各样本中水解 Ac-DEVD-pNA 的速度是不一样。在只加 $A\beta_{25-35}$ 样本的 Caspase-3 活性跟不加 $A\beta_{25-35}$ 的阴性对照、只加 Caspase-3 抑制剂的样本和同时加 $A\beta_{25-35}$ 抑制剂相比, 明显要高一些, 说明该样本中含有的激活的 Caspase-3 要比其它的多, 含有将发生细胞凋亡的要多。通过检测 Caspase-3 的活性, 结果明确表明 Caspase-3 抑制剂抵抗 $A\beta_{25-35}$ 的 $A\beta$ 的神经毒性介导的 PC12 凋亡, 保护细胞免受损伤。

附图说明

图 1 为 PC12 细胞在 1% 二甲基亚砷中的形态

图 2 为 PC12 细胞在 1%二甲基亚砷和 $20\mu\text{M}$ $A\beta$ 混合液中的形态

图 3 为 PC12 细胞在 200nM Ac-DEVD-CHO 中的形态

图 4 为 PC12 细胞在 200nM Ac-DEVD-CHO 和 $20\mu\text{M}$ $A\beta$ 混合液中的形态

图 5 为 PC12 细胞在 $28\mu\text{M}$ chen-1 中的形态

图 6 为 PC12 细胞在 $28\mu\text{M}$ chen-1 和 $20\mu\text{M}$ $A\beta$ 混合液中的形态

图 7 为不同 Caspase-3 抑制剂对由 $A\beta$ 诱导 PC12 凋亡存活率的影响。

图 8 为不同浓度的 Caspase-3 抑制剂对由 $A\beta$ 诱导 PC12 凋亡存活率的影响。

图 9 为不同 Caspase-3 抑制剂和 $20\mu\text{M}$ $A\beta$ 对 PC12 细胞影响的流式细胞的结果。

图 10. $20\mu\text{M}$ $A\beta$ 和 Caspase-3 抑制剂对 PC12 细胞凋亡率的影响

图 11 为以 $20\mu\text{M}$ $A\beta$ 和 caspase-3 抑制剂处理 10 小时的 PC12 细胞活性, 其中—◆—

表示 1%二甲基亚砜；—■—表示 A β +二甲基亚砜；—▲—表示 A β +2 μ M Ac-DEVD-CHO；—x—表示 A β +28 μ M chen-1；—*—表示 2 μ M Ac-DEVD-CHO，—●—表示 28 μ M chen-1 有益效果：

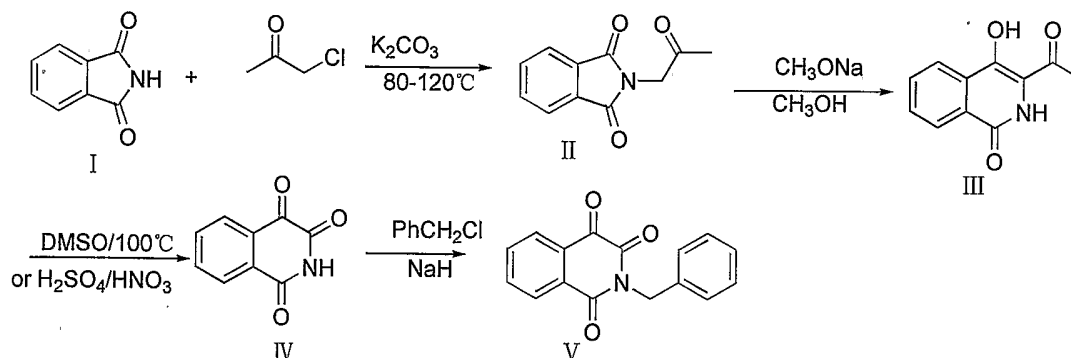
- 1、本发明提供了一种新颖的异喹啉-1, 3, 4-三酮类化合物及其制备方法。
- 2、本发明化合物对 caspase 有明显的抑制作用，对凋亡细胞有良好的保护作用，可作为 caspase 抑制剂和神经保护剂。
- 3、本发明为发掘治疗各种神经退行性疾病，特别是老年痴呆症、中风、缺血性脑损伤等疾病的药物提供途径。

具体实施方式

下面结合具体实施例对本发明作进一步阐述，但不限制本发明。

¹H-NMR 用 Varian MercuryAMX300 型仪测定；MS 用 VG ZAB-HS 或 VG-7070 型仪测定，除注明外均为 EI 源（70ev）；所有溶剂在使用前均经过重新蒸馏，所使用的无水溶剂均是按标准方法干燥处理获得；除说明外，所有反应均是在氩气保护下进行并用 TLC 跟踪，后处理时均经饱和食盐水洗和无水硫酸镁干燥过程；产品的纯化除说明外均使用硅胶(200-300 目)的柱色谱法；所使用的硅胶，包括 200-300 目和 GF₂₅₄ 为青岛海洋化工厂或烟台缘博硅胶公司生产。

化合物 Chen-3 的制备



取 2.0g 化合物 I 与 3.76g 碳酸钾充分混合均匀后倾入一个 25ml 的烧瓶中，加入 4.0ml 的氯丙酮，搅拌并加热至 90—110 $^{\circ}$ C（烧瓶上需加回流冷凝管，体系用氩气保护）反应 3~4hr 后处理，减压除去过量的氯丙酮，加入大量的水用布氏漏斗过滤，固体分别用 10ml 的 10%氢氧化钠溶液洗涤 2 次，水洗 5~6 次，真空干燥，得化合物 II；

取一个三颈瓶上接回流冷凝管，滴液漏斗，往三颈瓶中加入 100ml 的绝对甲醇（或其它无水溶剂），缓慢加入 0.23g 金属钠（或直接加入 10mmol 甲醇钠），待固体全部溶解后，加热回流，再通过滴液漏斗滴入经绝对甲醇溶解的化合物 II（60ml CH₃OH 和 1.0g 化

合物 II), 回流 2 小时后处理: 将体系用冰水浴冷却, 用 1M 盐酸将反应液缓慢中和, 待大量固体出现后, 在冰水浴中继续搅拌 30min, 过滤得固体, 少量水洗, 真空干燥, 得化合物 III;

取 230mg 化合物 III 于 25ml 烧瓶中, 加入 5ml 溶剂 (上面所列), 不断通过鼓泡器鼓入空气, 10 小时后反应完成, 处理: 用 30ml 乙酸乙酯稀释, 加水萃取, 水相用 30ml 乙酸乙酯反萃取, 有机相分别用水洗、饱和食盐水洗、合并有机相, 干燥、浓缩, 过硅胶柱 (石油醚: 乙酸乙酯=2:1), 得化合物 IV;

(制备化合物 IV 的另一种方法):

取 3ml 浓硫酸于 10ml 的烧杯中, 缓慢加入 0.5ml 发烟硝酸, 用冰水浴将体系冷却。待温度降至 12℃ 以下时, 加入 500mg 化合物 IV, 立即可见反应液变成深红色, 温度也瞬间升至 50℃ 以上, 5 分钟后 TLC 分析原料已消失, 处理: 缓慢加入 50ml 乙酸乙酯稀释, 加水萃取, 水相用 50ml 乙酸乙酯反萃取, 有机相分别用水洗、饱和食盐水洗、合并有机相, 干燥、浓缩, 得产物 IV。

将 40mg 化合物 IV 溶解于 1.5ml 无水溶剂 (上面所列) 中, 体系用冰盐浴冷却, 加入 14mg 的氢化钠反应 30 分钟后, 缓慢滴加 0.20ml 的苊氯, 反应 3 小时后处理: 用二氯甲烷快速萃取、干燥、浓缩, 过硅胶柱 (石油醚: 乙酸乙酯=8:1) 得化合物 V。

化合物 Chen-13 的制备

取 4.0g 5-硝基邻苯二甲酰亚胺与 5.74g 碳酸钾充分混合均匀后倾入一个 25ml 的烧瓶中, 加入 6.6ml 的氯丙酮, 加热至 90—110℃ (烧瓶上需加回流冷凝管, 体系用氩气保护) 反应 3~4hr 后处理, 减压除去过量的氯丙酮, 加入过量的水用布氏漏斗过滤, 固体分别用 10ml 的 10% 氢氧化钠溶液洗涤 2 次, 水洗 5~6 次, 真空干燥, 得 5-硝基-N-(2-羰基-丙基)-邻苯二甲酰亚胺;

取一个三颈瓶上接回流冷凝管, 滴液漏斗, 往三颈瓶中加入 240ml 的绝对甲醇, 缓慢加入 0.24g 金属钠, 待钠全部溶解后, 加热回流, 再通过滴液漏斗滴入经绝对甲醇溶解的 5-硝基-N-(2-羰基-丙基)-邻苯二甲酰亚胺 (60ml CH₃OH 和 1.0g 化合物), 回流 2 小时后处理: 将体系用冰水浴冷却, 用 1M 盐酸将反应液缓慢中和, 待大量固体出现后, 在冰水浴中继续搅拌 30 分钟, 离心分离得固体, 水洗后真空干燥, 得 0.86g 3-乙酰基-4-羟基-6-硝基-3,4-二氢-异喹啉-1-酮及 3-乙酰基-4-羟基-7-硝基-3,4-二氢-异喹啉-1-酮的混合物;

取 3ml 浓硫酸于 10ml 的烧杯中, 缓慢加入 0.5ml 发烟硝酸, 用冰水浴将体系冷却。待温度降至 12℃ 以下时, 加入 600mg 上述制得的混合物, 立即可见反应液变成深红色, 温度也升至 50℃ 以上, 30 分钟后 TLC 分析原料已消失, 处理: 加入 50ml 乙酸乙酯稀

释,加水萃取,水相用 50ml 乙酸乙酯反萃取,有机相分别用水洗、饱和食盐水洗、合并有机相,干燥、浓缩,得 Chen-13。

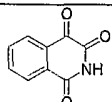
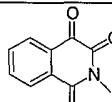
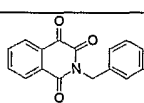
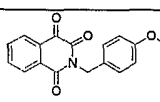
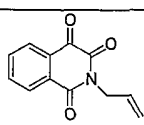
化合物 Chen-17 的制备

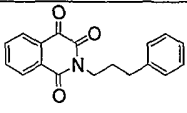
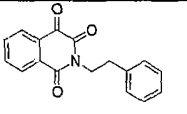
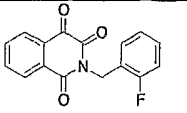
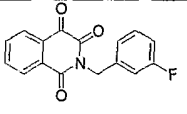
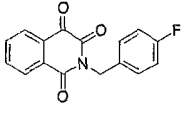
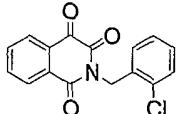
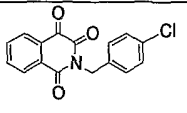
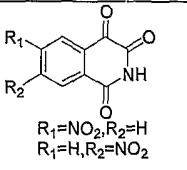
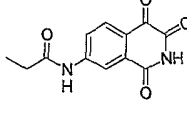
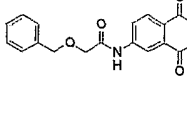
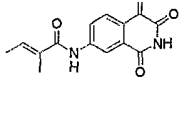
取 3.0g 2-羧甲基苯甲酸溶于 16ml 发烟硝酸中,室温下搅拌 2hr 后加入 16ml 冰水,过滤得沉淀,真空干燥,得 1.99g 5-硝基 2-羧甲基苯甲酸;

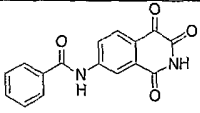
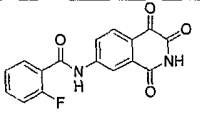
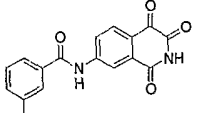
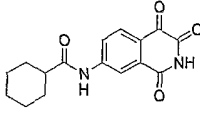
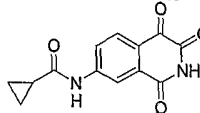
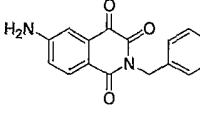
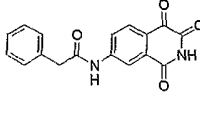
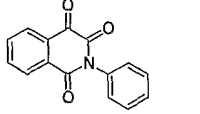
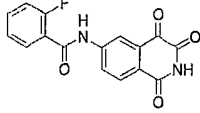
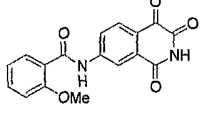
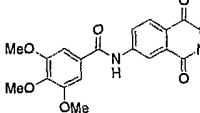
取 230mg 5-硝基 2-羧甲基苯甲酸于 10ml 烧瓶中,加入 1ml 氨水,加热回流 30min 后蒸去溶剂,然后将体系在油泵减压并加热至 150°C 反应 20min 后处理:用丙酮溶解过硅胶柱(石油醚:乙酸乙酯=1:1),得 7-硝基-4H-异喹啉-1,3-二酮。

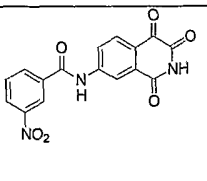
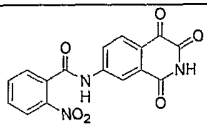
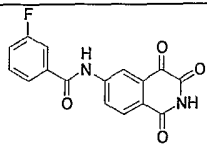
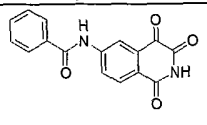
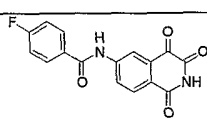
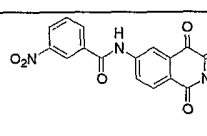
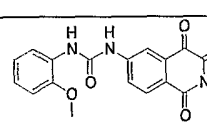
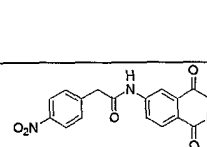
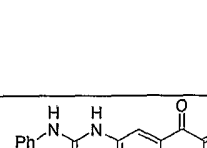
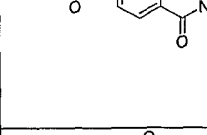
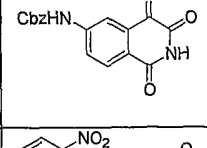
取 35mg 7-硝基-4H-异喹啉-1,3-二酮溶于 3ml 乙酸乙酯中,用 Pd/C 还原后过滤除去固体,往体系中加入 40 μ l 吡啶及 50 μ l 苯甲酰氯,3hr 后处理:加入 20ml 乙酸乙酯稀释,加水萃取,水相用 20ml 乙酸乙酯反萃取,有机相分别用水洗、饱和食盐水洗、合并有机相,干燥、浓缩,转移至 10ml 烧瓶,加入 2ml 干燥的甲苯(或二氧六环)及 25mg 二氧化硒,加热回流 12 hr 后处理:加入 20ml 乙酸乙酯稀释,加水萃取,水相用 20ml 乙酸乙酯反萃取,有机相分别用水洗、饱和食盐水洗、合并有机相,干燥、浓缩,过硅胶柱(二氯甲烷:丙酮=10:1),得 chen-17。

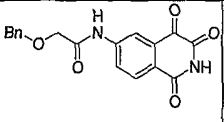
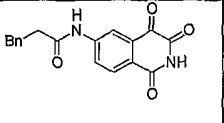
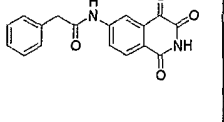
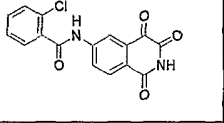
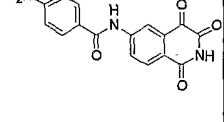
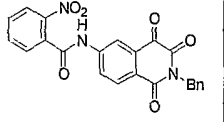
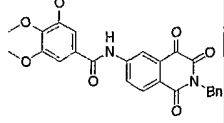
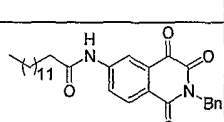
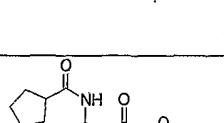
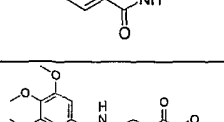
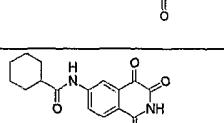
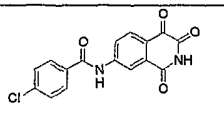
用上述类似方法制得下表所列化合物:

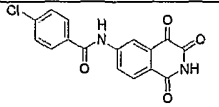
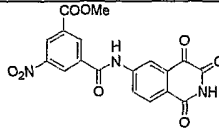
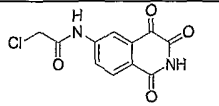
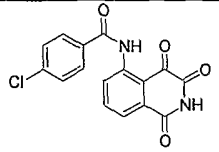
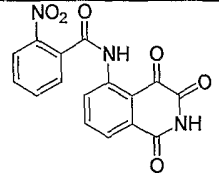
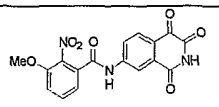
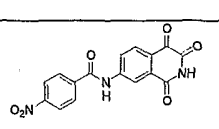
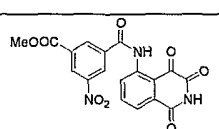
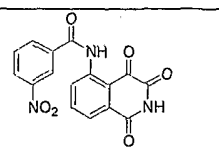
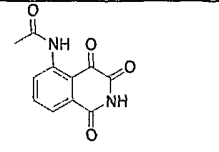
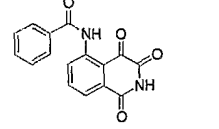
化合物编号	化学结构	¹ H-NMR
Chen-1		δ (DMSO 300MHz) 11.97 (br, 1H), 8.13 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 8.05 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.95 - 7.88 (m, 2H)
Chen-2		δ (CDCl ₃ 300MHz) 8.36 (dd, $J = 1.2, 7.8$ Hz, 1H), 8.23 (dd, $J = 1.8, 7.5$ Hz, 1H), 7.94 - 7.81 (m, 2H), 3.50 (s, 3H)
Chen-3		δ (CDCl ₃ 300MHz) 8.34 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 8.19 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.89 (dd, $J = 6.9, 7.5$ Hz, 1H), 7.81 (dd, $J = 6.9, 7.5$ Hz, 1H), 7.51 - 7.48 (m, 2H), 7.32 - 7.26 (m, 3H), 5.23 (s, 2H)
Chen-4		δ (CDCl ₃ 300MHz) 8.34 (dd, $J = 1.2, 7.8$ Hz, 1H), 8.19 (dd, $J = 1.4, 7.8$ Hz, 1H), 7.89 (ddd, $J = 1.2, 7.5, 7.8$ Hz, 1H), 7.81 (ddd, $J = 1.4, 7.5, 7.8$ Hz, 1H), 7.47 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.83 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 5.17 (s, 2H), 3.76 (s, 3H)
Chen-5		δ (CDCl ₃ 300MHz) 8.35 (dd, $J = 1.2, 7.5$ Hz, 1H), 8.22 (dd, $J = 1.5, 7.5$ Hz, 1H), 7.94 - 7.81 (m, 2H), 5.96 - 5.86 (m, 1H), 5.37 - 5.22 (m, 2H), 4.66 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H)

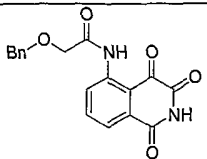
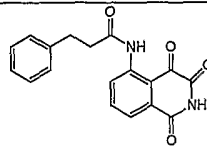
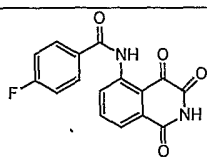
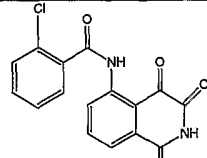
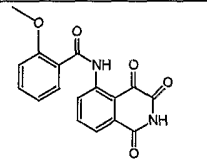
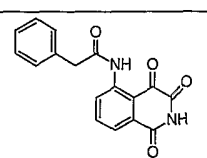
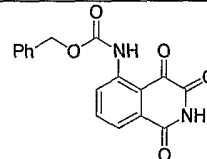
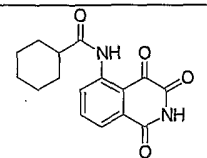
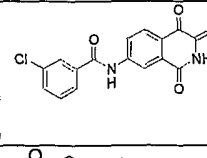
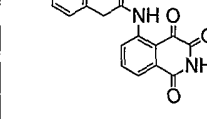
Chen-6		δ (CDCl ₃ 300MHz) 8.30 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 8.16 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.88 -7.80 (m, 2H), 7.23 -7.09 (m, 5H), 4.11 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.72 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.10 -2.00 (m, 2H)
Chen-7		δ (CDCl ₃ 300MHz) 8.33 (dd, $J = 1.3, 8.0$ Hz, 1H), 8.20 (dd, $J = 1.4, 7.5$ Hz, 1H), 7.90 (ddd, $J = 1.4, 7.2, 8.0$ Hz, 1H), 7.83 (ddd, $J = 1.3, 7.2, 7.5$ Hz, 1H), 7.35 -7.18 (m, 5H), 4.26 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 2.96 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H)
Chen-8		δ (CDCl ₃ 300MHz) 8.36 (dd, $J = 0.9, 6.6$ Hz, 1H), 7.94 -7.82 (m, 2H), 7.34 -7.31 (m, 1H), 7.26 -7.21 (m, 1H), 7.09 -7.04 (m, 2H) 5.34 (s, 2H)
Chen-9		δ (CDCl ₃ 300MHz) 8.36 (dd, $J = 1.2, 7.8$ Hz, 1H), 8.12 (dd, $J = 1.0, 7.5$ Hz, 1H), 7.91 (ddd, $J = 1.2, 7.5, 7.5$ Hz, 1H), 7.84 (ddd, $J = 1.0, 7.5, 7.8$ Hz, 1H), 7.29 -7.26 (m, 2H), 7.21 -7.19 (m, 1H), 6.97 -6.96 (m, 1H), 5.22 (s, 2H)
Chen-10		δ (CDCl ₃ 300MHz) 8.34 (dd, $J = 1.2, 7.8$ Hz, 1H), 8.20 (dd, $J = 1.2, 7.2$ Hz, 1H), 7.90 (ddd, $J = 1.2, 7.3, 7.8$ Hz, 1H), 7.82 (ddd, $J = 1.2, 7.3, 7.8$ Hz, 1H), 7.48 (ddd, $J = 2.3, 5.4, 8.5$ Hz, 2H), 7.00 (ddd, $J = 2.3, 5.4, 8.5, 2H$), 5.19 (s, 2H)
Chen-11		δ (CDCl ₃ 300MHz) 8.36 (dd, $J = 1.2, 7.2$ Hz, 1H), 8.26 (dd, $J = 1.2, 7.5$ Hz, 1H), 7.95 -7.84 (m, 2H), 7.39 (dd, $J = 1.8, 7.5$ Hz, 1H), 7.21 -7.11 (m, 3H), 5.37 (s, 2H)
Chen-12		δ (CDCl ₃ 300MHz) 8.34 (dd, $J = 1.5, 7.5$ Hz, 1H), 8.20 (dd, $J = 1.5, 7.5$ Hz, 1H), 7.90 (ddd, $J = 1.5, 7.5, 7.5$ Hz, 1H), 7.82 (ddd, $J = 1.5, 7.5, 7.5$ Hz, 1H), 7.45 (dd, $J = 2.0, 6.9$ Hz, 2H), 7.26 (dd, $J = 2.0, 6.9$ Hz, 2H), 5.19 (s, 2H)
Chen-13		δ (DMSO 300MHz) 12.24 (br, 1H), 12.23 (br, 1H), 8.69 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 8.65 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 8.61 (dd, $J = 2.7, 8.3$ Hz, 1H), 8.60 (dd, $J = 2.4, 8.7$ Hz, 1H), 8.36 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 8.26 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H)
Chen-14		δ (CD ₃ COCD ₃ , 300MHz) 10.86 (br, 1H), 9.79 (br, 1H), 8.56 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 8.15 (dd, $J = 1.8, 8.3$ Hz, 1H), 8.09 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 2.50 (q, $J = 7.5$ Hz, 2H) 1.17 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H)
Chen-15		δ (DMSO 300MHz) 11.96 (br, 1H), 10.53 (br, 1H), 8.50 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.09 (dd, $J = 2.0, 8.6$ Hz, 1H), 8.03 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.43 -7.31 (m, 5H), 4.64 (s, 2H), 4.19 (s, 2H)
Chen-16		δ (CDCl ₃ 300MHz) 8.66 (br, 1H), 8.34 (dd, $J = 2.3, 8.6$ Hz, 1H), 8.249 (d, $J = 2.3$ Hz, 2H), 8.248 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.88 (br, 1H), 6.66 -6.63 (m, 1H), 2.04 (s, 3H), 1.88 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H)

Chen-17		δ (CD_3COCD_3 , 300MHz) 10.89 (br, 1H), 10.19 (br, 1H), 8.76 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 8.43 (dd, $J = 2.3, 8.8$ Hz, 1H), 8.18 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 8.10 - 8.07 (m, 2H), 7.67 - 7.62 (m, 1H), 7.59 - 7.54 (m, 2H)
Chen-18		δ (DMSO 300MHz) 11.99 (br, 1H), 11.10 (br, 1H), 8.57 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.14 (dd, $J = 2.1, 8.7$ Hz, 1H), 8.08 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.77 - 7.71 (m, 1H), 7.66 - 7.61 (m, 1H), 7.43 - 7.35 (m, 1H)
Chen-19		δ (CD_3COCD_3 , 300MHz) 10.90 (br, 1H), 10.22 (br, 1H), 8.74 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 8.42 (dd, $J = 1.8, 8.4$ Hz, 1H), 8.19 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 7.63 (dd, $J = 8.1, 13.8$ Hz, 1H)
Chen-20		δ (CD_3COCD_3 , 300MHz) 10.84 (br, 1H), 9.71 (br, 1H), 8.57 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 8.19 (dd, $J = 2.2, 8.7$ Hz, 1H), 8.10 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 2.51 - 2.41 (m, 1H), 1.96 - 1.91 (m, 2H), 1.87 - 1.79 (m, 2H), 1.70 - 1.66 (m, 1H), 1.59 - 1.47 (m, 2H), 1.39 - 1.35 (m, 1H), 1.30 - 1.23 (m, 2H)
Chen-21		δ (DMSO 300MHz) 11.95 (br, 1H), 10.91 (br, 1H), 8.42 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.02 (br, 2H), 1.84 (m, 1H), 0.89 (m, 4H)
Chen-22		δ (CDCl_3 , 300MHz) 8.11 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.49 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H), 7.31 - 7.30 (m, 3H), 7.28 (s, 1H), 7.01 (dd, $J = 2.4$ Hz, 1H), 5.20 (s, 2H), 4.42 (br, 2H)
Chen-23		δ (CDCl_3 , 300MHz) 8.65 (br, 1H), 8.25 (dd, $J = 2.0, 8.3$ Hz, 1H), 8.20 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 8.05 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.57 (br, 1H), 7.48 - 7.40 (m, 3H), 7.36 - 7.31 (m, 2H), 3.83 (s, 2H)
Chen-24		δ (CDCl_3 , 300MHz) 8.40 (dd, $J = 1.2, 7.1$ Hz, 1H), 8.31 (dd, $J = 1.5, 7.3$ Hz, 1H), 7.96 (ddd, $J = 1.5, 7.8$ Hz, 1H), 7.90 (ddd, $J = 1.2, 7.3$ Hz, 1H), 7.58 - 7.50 (m, 3H), 7.27 - 7.24 (m, 2H)
Chen-25		δ (DMSO 300MHz) 11.89 (br, 1H), 11.02 (br, 1H), 8.47 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 8.17 (dd, $J = 2.4, 8.4$ Hz, 1H), 8.13 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.76 - 7.71 (m, 1H), 7.66 - 7.60 (m, 1H), 7.43 - 7.33 (m, 2H)
Chen-26		δ (DMSO 300MHz) 11.97 (br, 1H), 10.76 (br, 1H), 8.59 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.14 (dd, $J = 2.1, 8.4$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.63 (dd, $J = 2.1, 7.5$ Hz, 1H), 7.58 - 7.52 (m, 1H), 7.21 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.09 (dd, $J = 7.5, 7.5$ Hz, 1H), 3.90 (s, 3H)
Chen-27		δ (DMSO 300MHz) 11.98 (br, 1H), 10.70 (br, 1H), 8.56 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.31 (dd, $J = 2.0, 8.5$ Hz, 1H), 8.09 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.35 (s, 2H), 3.89 (s, 6H), 3.75 (s, 3H)

Chen-28		δ (DMSO 300MHz) 11.98 (br, 1H), 11.17 (br, 1H), 8.87 (dd, $J = 1.8, 2.4$ Hz, 1H), 8.62 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.51 – 8.45 (m, 2H), 8.31 (dd, $J = 2.0, 8.5$ Hz, 1H), 8.11 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.89 (dd, $J = 2.1, 2.1$ Hz, 1H)
Chen-29		δ (DMSO 300MHz) 12.00 (br, 1H), 11.33 (br, 1H), 8.52 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.21 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 8.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.04 (dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz, 1H), 7.95 – 7.90 (m, 1H), 7.86 – 7.79 (m, 2H)
Chen-30		δ (DMSO 300MHz) 11.88 (br, 1H), 10.85 (br, 1H), 8.52 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.30 (dd, $J = 2.0, 8.5$ Hz, 1H), 8.14 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.82 – 7.78 (m, 1H), 7.67 – 7.48 (m, 2H)
Chen-31		δ (DMSO 300MHz) 11.87 (br, 1H), 10.81 (br, 1H), 8.55 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.31 (dd, $J = 2.1, 8.4$ Hz, 1H), 8.13 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.03 – 7.93 (m, 2H), 7.65 – 7.48 (m, 3H)
Chen-32		δ (DMSO 300MHz) 12.23 (br, 1H), 8.64 (dd, $J = 2.4, 8.7$ Hz, 1H), 8.60 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 8.35 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 8.02 – 7.98 (m, 2H), 7.35 – 7.29 (m, 3H)
Chen-33		δ (DMSO 300MHz) 11.90 (br, 1H), 11.11 (br, 1H), 8.86 (m, 1H), 8.53 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 8.50 – 8.45 (m, 2H), 8.33 (dd, $J = 2.4, 8.4$ Hz, 1H), 8.16 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.91 – 7.86 (m, 1H)
Chen-34		δ (DMSO 300MHz) 11.80 (br, 1H), 10.00 (br, 1H), 8.38 (br, 1H), 8.28 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 8.13 (dd, $J = 1.5, 8.1$ Hz, 1H), 8.05 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.78 (dd, $J = 2.4, 8.4$ Hz, 1H), 7.07 – 6.90 (m, 3H), 3.89 (s, 3H)
Chen-35		δ (DMSO 300MHz) 11.86 (br, 1H), 10.89 (br, 1H), 8.33 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.22 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 8.08 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 8.02 (dd, $J = 2.1, 8.4$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 3.93 (s, 2H)
Chen-36		δ (DMSO 300MHz) 11.80 (br, 1H), 9.41 (br, 1H), 8.90 (br, 1H), 8.26 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.04 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.83 (dd, $J = 2.1, 8.5$ Hz, 1H), 7.49 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.31 (dd, $J = 7.5, 7.5$ Hz, 1H), 7.02 (dd, $J = 7.5, 7.5$ Hz, 1H)
Chen-37		δ (DMSO 300MHz) 11.82 (br, 1H), 10.49 (br, 1H), 8.21 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 8.06 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.90 (dd, $J = 2.4, 8.7$ Hz, 1H), 7.46 – 7.39 (m, 5H), 5.22 (s, 2H)
Chen-38		δ (DMSO 300MHz) 11.89 (br, 1H), 11.25 (br, 1H), 8.42 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 8.21 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 8.14 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.07 (dd, $J = 1.8, 8.4$ Hz, 1H), 7.95 – 7.90 (m, 1H), 7.86 – 7.81 (m, 1H), 7.80 – 7.77 (m, 1H)

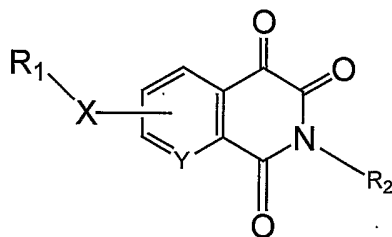
Chen-39		δ (CDCl ₃ 300MHz) 8.72 (br, 1H), 8.54 (br, 1H), 8.38 (dd, J = 2.1, 8.7 Hz, 1H), 8.29 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 8.17 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.43 - 7.40 (m, 5H), 4.69 (s, 2H), 4.35 (s, 2H)
Chen-40		δ (DMSO 300MHz) 11.85 (br, 1H), 10.52 (br, 1H), 8.33 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.07 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 8.00 (dd, J = 2.1, 8.7 Hz, 1H), 7.29 - 7.24 (m, 5H), 2.94 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.71 (t, J = 7.5 Hz, 2H)
Chen-41		δ (DMSO 300MHz) 11.83 (br, 1H), 10.77 (br, 1H), 8.34 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.03 (dd, J = 1.8, 8.4 Hz, 1H), 7.35 - 7.24 (m, 5H), 3.72 (s, 2H)
Chen-42		δ (DMSO 300MHz) 11.89 (br, 1H), 11.12 (br, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.13 (br, 2H), 7.68 - 7.39 (m, 4H)
Chen-43		δ (DMSO 300MHz) 11.89 (br, 1H), 11.09 (br, 1H), 8.53 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 8.41 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 8.30 (dd, J = 2.1, 8.4 Hz, 1H), 8.25 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 8.16 (d, J = 8.4 Hz, 2H)
Chen-44		δ (DMSO 300MHz) 11.30 (br, 1H), 8.48 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.22 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.09 (dd, J = 1.8, 8.4 Hz, 1H), 7.96 - 7.89 (m, 4H), 7.43 - 7.41 (m, 2H), 7.34 - 7.23 (m, 3H), 5.09 (s, 2H)
Chen-45		δ (CDCl ₃ 300MHz) 8.46 (dd, J = 2.1, 8.7 Hz, 1H), 8.34 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 8.33 (br, 1H), 8.19 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.52 - 7.49 (m, 2H), 7.35 (s, 1H), 7.34 - 7.29 (m, 3H), 7.11 (s, 2H), 5.23 (s, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.91 (s, 6H)
Chen-46		δ (DMSO 300MHz) 10.50 (br, 1H), 8.38 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 8.13 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.02 (dd, J = 2.1, 8.4 Hz, 1H), 7.40 - 7.23 (m, 5H), 5.06 (s, 2H), 2.38 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 1.61 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 1.23 (br, 20H), 0.85 (t, J = 6.6 Hz, 3H)
Chen-47		δ (CDCl ₃ 300MHz) 11.63 (br, 1H), 9.22 (dd, J = 0.9, 8.4 Hz, 1H), 8.71 (br, 1H), 8.05 (dd, J = 0.9, 7.5 Hz, 1H), 7.90 (dd, J = 7.5, 8.4 Hz, 1H), 2.93 - 2.08 (m, 1H), 2.09 - 1.65 (m, 8H)
Chen-48		δ (DMSO 300MHz) 11.88 (br, 1H), 10.65 (br, 1H), 8.47 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.32 (dd, J = 1.8, 8.1 Hz, 1H), 8.14 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.34 (s, 2H), 3.89 (s, 6H), 3.75 (s, 3H)
Chen-49		δ (DMSO 300MHz) 11.84 (br, 1H), 10.45 (br, 1H), 8.35 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 8.04 (br, 2H), 2.42 - 2.38 (m, 1H), 1.85 - 1.14 (m, 10H)
Chen-50		δ (DMSO 300MHz) 11.99 (br, 1H), 10.93 (br, 1H), 8.61 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.28 (dd, J = 1.5, 9.0 Hz, 1H), 8.08 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 8.05 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.66 (d, J = 8.7 Hz, 2H)

Chen-51		δ (CDCl ₃ 300MHz) 8.08 (br, 2H), 7.64 -7.55 (m, 3H), 7.13 (dd, $J = 7.5, 7.8$ Hz, 2H), 6.92 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H)
Chen-52		δ (DMSO 300MHz) 11.91 (br, 1H), 11.25 (br, 1H), 9.09 (dd, $J = 1.8, 1.8$ Hz, 1H), 8.95 (dd, $J = 1.8, 1.8$ Hz, 1H), 8.80 (dd, $J = 1.8, 1.8$ Hz, 1H), 8.51 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.33 (dd, $J = 2.1, 8.4$ Hz, 1H), 8.16 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 3.99 (s, 3H)
Chen-53		δ (DMSO 300MHz) 11.88 (br, 1H), 10.91 (br, 1H), 8.33 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.10 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.01 (dd, $J = 2.1, 8.4$ Hz, 1H), 4.35 (s, 2H)
Zhang-1		(DMSO 300MHz) 12.35 (br, 1H), 12.17 (br, 1H), 9.04 (dd, $J = 1.5, 8.1$ Hz, 1H), 8.08 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H), 8.02 -7.94 (m, 2H), 7.56 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H)
Zhang-2		(DMSO 300MHz) 12.14 (br, 1H), 11.82 (br, 1H), 8.82 (dd, $J = 3.0, 6.9$ Hz, 1H), 8.82 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 8.03 -7.97 (m, 2H), 7.92 -7.87 (m, 1H), 7.86 -7.82 (m, 1H), 7.80 -7.78 (m, 1H)
Zhang-3		(DMSO 300MHz) 11.97 (br, 1H), 11.29 (br, 1H), 8.49 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.07 -8.05 (m, 2H), 7.72 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 3.90 (s, 3H)
Zhang-4		(DMSO 300MHz) 12.14 (br, 1H), 11.02 (br, 1H), 8.61 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 8.38 (dd, $J = 1.5, 8.4$ Hz, 1H), 8.32 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 8.25 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 8.08 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H)
Zhang-5		(DMSO 300MHz) 12.41 (br, 1H), 12.20 (br, 1H), 8.98 -8.96 (m, 2H), 8.90 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.01-7.98 (m, 2H), 3.99 (s, 3H)
Zhang-6		δ (DMSO 300MHz) 12.42 (br, 1H), 12.19 (br, 1H), 9.01 (dd, $J = 1.8, 8.1$ Hz, 1H), 8.87 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 8.56 (dd, $J = 0.9, 7.2$ Hz, 1H), 8.45 (dd, $J = 0.9, 7.2$ Hz, 1H), 8.02 -7.96 (m, 3H)
Zhang-7		δ (DMSO 300MHz) 12.10 (br, 1H), 11.34 (br, 1H), 8.84 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.89 -7.87 (m, 2H), 2.25 (s, 3H)
Zhang-8		δ (DMSO 300MHz) 12.40 (br, 1H), 12.16 (br, 1H), 9.08 (dd, $J = 1.5, 7.8$ Hz, 1H), 8.04 (dd, $J = 1.5, 8.1$ Hz, 1H), 7.99-7.92 (m, 3H), 7.69 -7.65 (m, 2H), 7.51 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H)

Zhang-9		δ (DMSO 300MHz) 12.19 (br, 1H), 12.09 (br, 1H), 8.99 (dd, $J = 3.3$, 6.3 Hz, 1H), 7.94 - 7.90 (m, 2H), 7.52 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.40 - 7.34 (m, 3H), 4.72 (s, 2H), 4.18 (s, 2H)
Zhang-10		δ (DMSO 300MHz) 12.09 (br, 1H), 11.41 (br, 1H), 8.85 (dd, $J = 7.8$, 1.8 Hz, 1H), 7.89 (dd, $J = 7.5$, 7.8 Hz, 1H), 7.86 (dd, $J = 1.8$, 7.5 Hz, 1H), 7.29 - 7.27 (m, 5H), 2.99 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.86 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H)
Zhang-11		δ (DMSO 300MHz) 12.35 (br, 1H), 12.17 (br, 1H), 9.04 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 8.11-8.08 (m, 2H), 7.98 - 7.94 (m, 2H), 7.52 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H)
Zhang-12		δ (CDCl ₃ 300MHz) 12.03 (br, 1H), 9.37 (d, $J = 8.1$ Hz), 9.16 (br, 1H), 8.13 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 8.01 (dd, $J = 7.5$, 8.1 Hz, 1H), 7.70 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.50 - 7.40 (m, 3H)
Zhang-13		δ (DMSO 300MHz) 12.72 (br, 1H), 12.10 (br, 1H), 9.18 (dd, $J = 3.0$, 6.3 Hz, 1H), 8.04 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 8.06-7.92 (m, 2H), 7.66-7.62 (m, 1H), 7.31 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.16 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 4.10 (s, 3H)
Zhang-14		δ (DMSO 300MHz) 12.05 (br, 1H), 11.39 (br, 1H), 8.87 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.87 - 7.85 (m, 2H), 7.41 - 7.32 (m, 5H), 3.88 (s, 2H)
Zhang-15		(DMSO 300MHz) 12.10 (br, 1H), 11.07 (br, 1H), 8.64 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.92 (dd, $J = 7.2$, 8.1 Hz, 1H), 7.83 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.44 - 7.40 (m, 5H)
Zhang-16		δ (CDCl ₃ 300MHz) 11.65 (br, 1H), 9.30 (br, 1H), 9.23 (dd, $J = 1.2$, 8.7 Hz, 1H), 8.06 (dd, $J = 1.2$, 7.5 Hz, 1H), 7.91 (dd, $J = 7.5$, 8.7 Hz, 1H), 2.42 - 2.28 (m, 1H), 2.09 - 1.16 (m, 10H)
Zhang-17		δ (DMSO 300MHz) 12.00 (br, 1H), 10.85 (br, 1H), 8.60 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.31 (dd, $J = 8.1$ Hz, 1H), 8.06 - 8.02 (m, 2H), 7.92 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.58 - 7.46 (m, 2H)
Zhang-18		δ (DMSO 300MHz) 12.04 (br, 1H), 11.36 (br, 1H), 8.88 (dd, $J = 1.8$, 7.8 Hz, 1H), 7.89-7.85 (m, 2H), 7.32 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.95 (d, $J = 8.1$, 2H), 3.76 (s, 2H), 3.70 (s, 3H)

权利要求

1、一类异喹啉-1, 3, 4-三酮类化合物, 其结构式如下:



二氢异喹啉-1,3,4-三酮

其中 R₁ 取代基任意选自下列基团中的一个、两个或三个: H; 烷基; 羟基; 含有包括卤素原子、烷氧基或羟基在内的取代烷基; 含有包括卤素原子、烷氧基或羟基在内的取代烷氧基或烷胺基; 氧或胺取代的 C₂-C₆ 的烯基; C₃-C₆ 的环烷基; 取代芳基; 苄基; 烷酰基; 含有包括卤素原子、烷氧基或羟基在内的取代烷酰基; C₂-C₆ 的烯酰基; C₃-C₆ 的环烷酰基; 叔丁氧羰基; 苯甲酰基; 烷胺基在内的任意一个、两个或者三个基团取代的苯甲酰基; 苄酰基; 烷胺基在内的任意一个、两个或者三个基团取代的苄酰基; 噻吩甲酰基; 金刚烷甲酰基; 扁桃酰基; 烷氧基; 烷胺基; 环烷氧基; 环烷胺基; 胺基; 酰胺基; 烷氧羰基; 环烷氧羰基; 烷酰氧基; 烷酰胺基; 环烷酰氧基; 环烷酰胺基; 脲基; 亚脲基; 烷酰基; 硝基; 羧基;

R₂ 为 H; 烷基; 含有包括卤素原子、烷氧基或羟基在内的取代烷基、取代 C₁-C₄ 环烷基; C₂-C₆ 的烯基; 芳基; 取代芳基;

X 为 H、CH₂、NH、O、S;

Y 为 CH、N。

2、根据权利要求 1 所述的异喹啉-1, 3, 4-三酮类化合物, 其特征在于

当 R₁ 为 H; 烷基; 羟基; 含有包括卤素原子、烷氧基或羟基在内的取代烷基; 含有包括卤素原子、烷氧基或羟基在内的取代烷氧基或烷胺基; 氧或胺取代的 C₂-C₆ 的烯基; C₃-C₆ 的环烷基; 取代芳基; 苄基;

R₂ 为 H; 烷基; 含有包括卤素原子、烷氧基或羟基在内的取代烷基、取代 C₁-C₄ 环烷基; C₂-C₆ 的烯基; 芳基; 取代芳基;

X 为 H、CH₂、NH、O、S;

Y 为 CH、N。

3、根据权利要求 1 所述的异喹啉-1, 3, 4-三酮类化合物, 其特征在于

当 R₁ 为烷酰基; 含有包括卤素原子、烷氧基或羟基在内的取代烷酰基; C₂-C₆ 的烯酰

基；C₃-C₆的环烷酰基；叔丁氧羰基；苯甲酰基；烷胺基在内的任意一个、两个或者三个基团取代的苯甲酰基；苄酰基；烷胺基在内的任意一个、两个或者三个基团取代的苄酰基；噻吩甲酰基；金刚烷甲酰基；扁桃酰基；

R₂为H；烷基；含有包括卤素原子、烷氧基或羟基在内的取代烷基、取代C₁-C₄环烷基；C₂-C₆的烯基；芳基；取代芳基；

X为H、CH₂、NH、O、S；

Y为CH、N。

4、根据权利要求1所述的喹啉-1, 3, 4-三酮类化合物，其特征在于

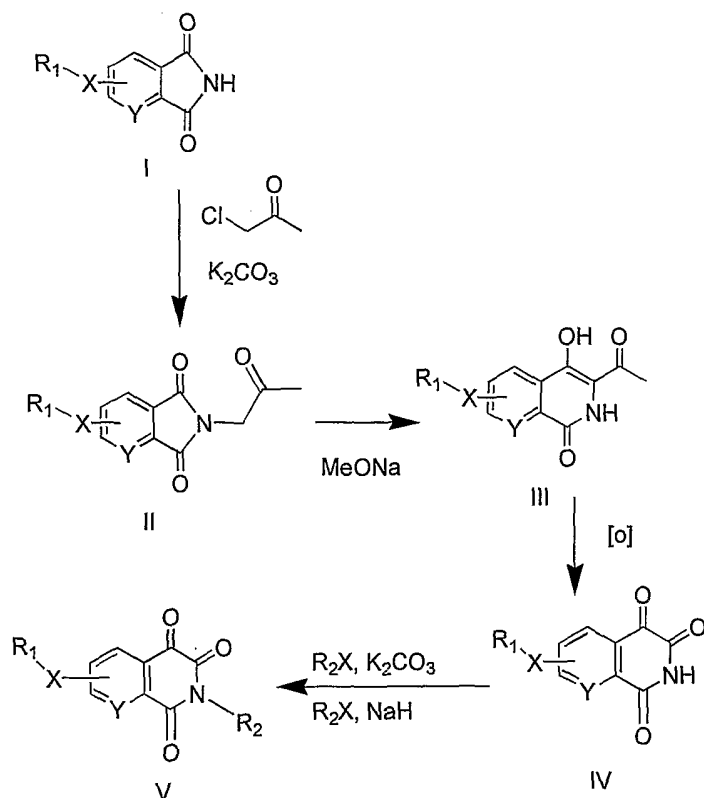
当R₁为烷氧基；烷胺基；环烷氧基；环烷胺基；胺基；酰胺基；烷氧羰基；环烷氧羰基；烷酰氧基；烷酰胺基；环烷酰氧基；环烷酰胺基；脲基；亚脲基；烷酰基；硝基；羧基；

R₂为H；烷基；含有包括卤素原子、烷氧基或羟基在内的取代烷基、取代C₁-C₄环烷基；C₂-C₆的烯基；芳基；取代芳基；

X为H、CH₂、NH、O、S；

Y为CH、N。

5、如权利要求1所述的异喹啉-1, 3, 4-三酮类化合物的制备方法，其特征在于由下列步骤组成：化学反应式如下



- a、前体化合物 I 与卤丙酮反应，得化合物 II；
- b、化合物 II 在一定溶剂中与醇钠反应，得化合物 III；
- c、化合物 III 在适当的溶剂中氧化脱酰，得异喹啉-1, 3, 4-三酮类化合物 IV；
- d、化合物 IV 在适当碱存在下与卤代化合物，得目标化合物 V。

6、根据权利要求 6 所述异喹啉-1, 3, 4-三酮类化合物的制备方法，其特征在于化合物 II 在甲醇、乙醇、二甲基甲酰胺、二甲基亚砷、苯、甲苯等溶剂中，与醇钠反应得到化合物 III。

7、根据权利要求 6 所述异喹啉-1, 3, 4-三酮类化合物的制备方法，其特征在于化合物 III 在二甲基亚砷、二甲基甲酰胺、甲苯，水等溶剂中氧化脱酰，反应温度为 80-120°C。或者化合物 III 在其它氧化条件下如硝酸存在下氧化脱酰得化合物 IV。

8、根据权利要求 6 所述异喹啉-1, 3, 4-三酮类化合物的制备方法，其特征在于化合物 IV 在丙酮、四氢呋喃、二甲基亚砷、二甲基甲酰胺、甲苯等溶剂中，在碳酸钾、吡啶、三乙胺等碱作用下得到化合物 V。

9、如权利要求 1 所述的异喹啉-1, 3, 4-三酮类化合物作为 Caspase 抑制剂的应用。

10、如权利要求 1 所述的异喹啉-1, 3, 4-三酮类化合物在制备治疗各种神经退行性疾病，特别是老年痴呆症、中风、缺血性脑损伤药物中应用。

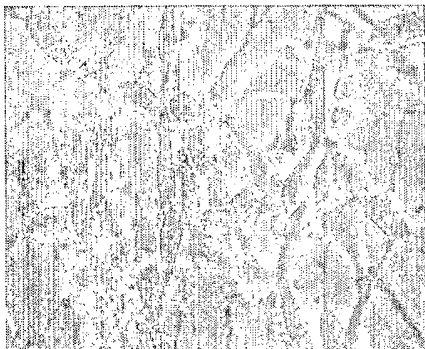


图 1

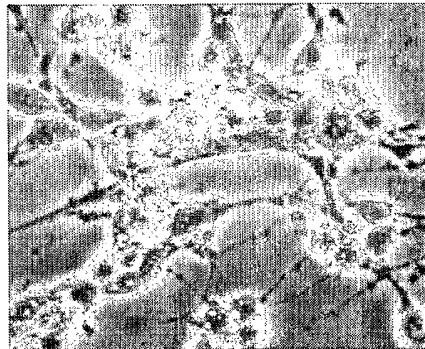


图 2

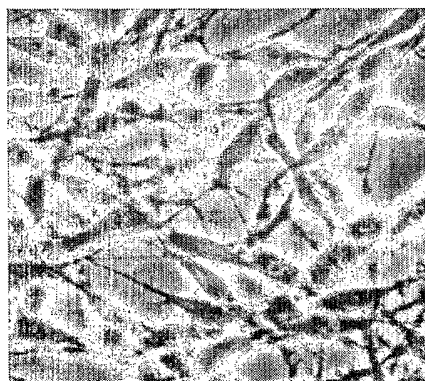


图 3

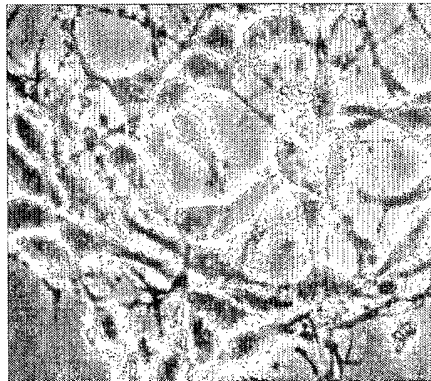


图 4

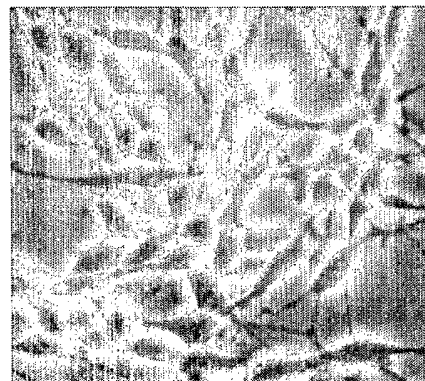


图 5

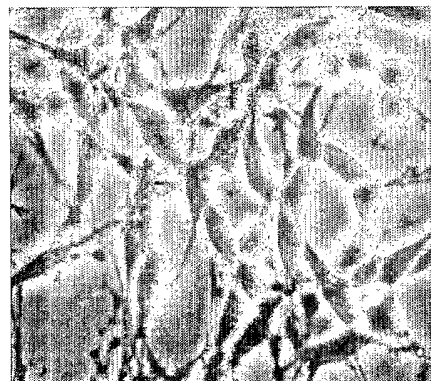


图 6

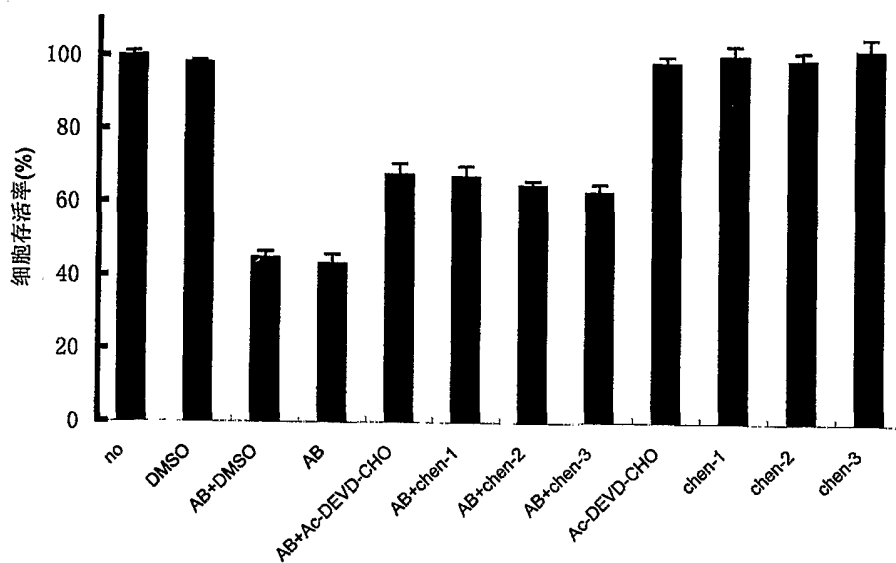


图7

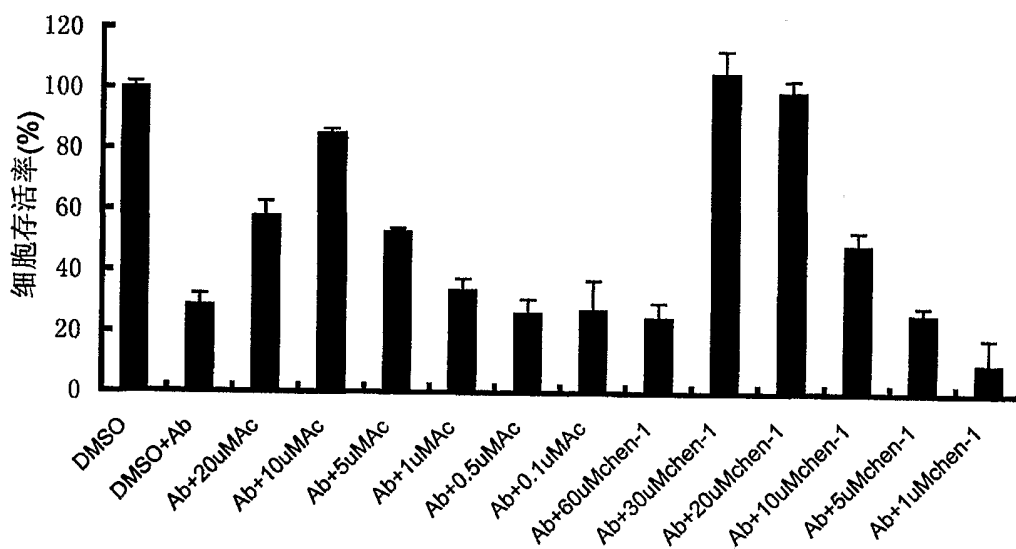


图8

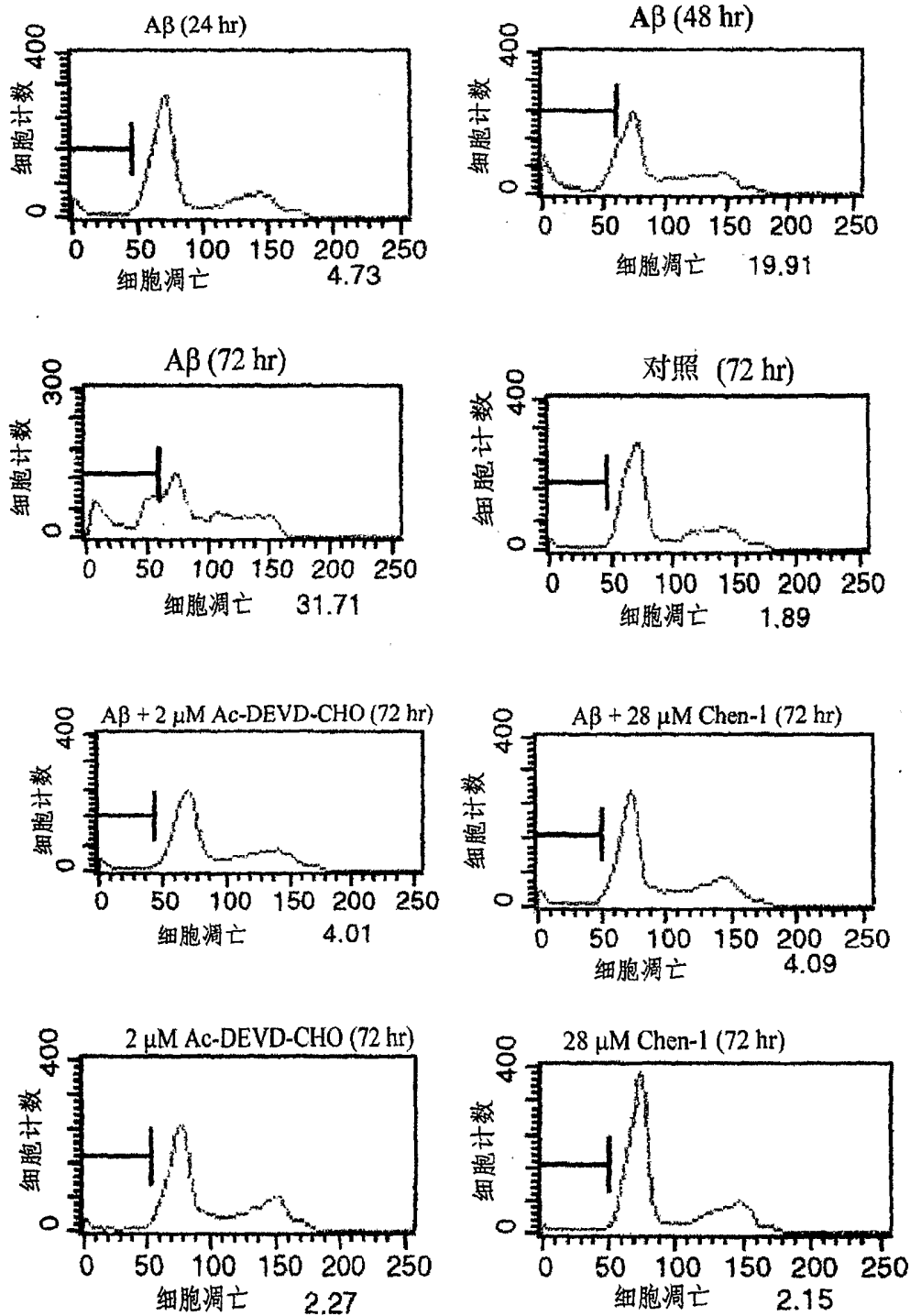


图9

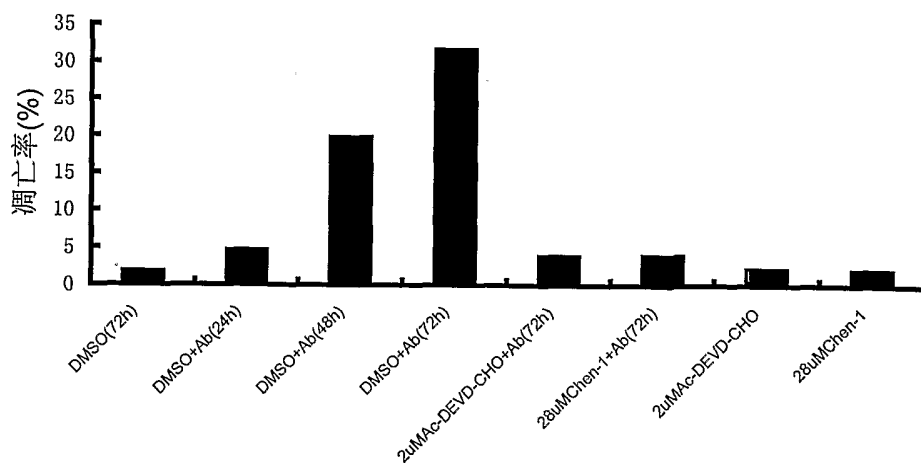


图 10

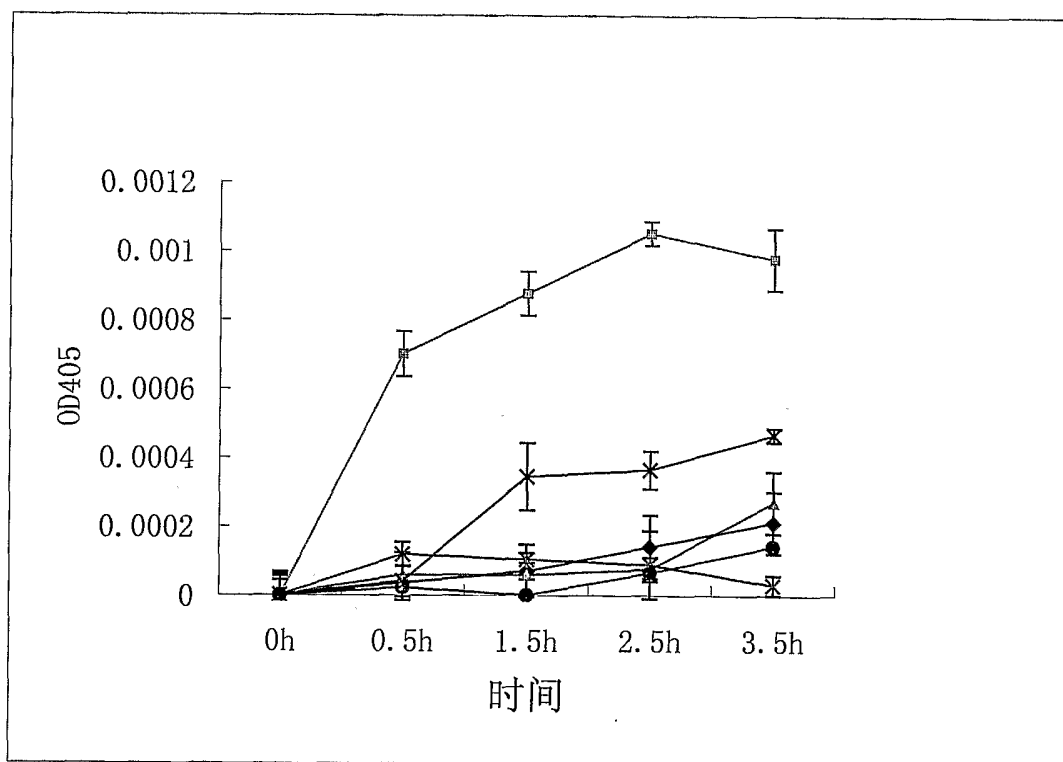



图 11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2004/000567

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER <p style="text-align: center;">C07D217/04 A61P25/00 A61P25/28</p> <p style="text-align: center;">According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC</p>				
B. FIELDS SEARCHED <p style="text-align: center;">Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)</p> <p style="text-align: center;">IPC7 C07D A61P</p> <p style="text-align: center;">Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched</p> <p style="text-align: center;">Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)</p> <p style="text-align: center;">EPODOC, WPI, PAJ, CPRS, CNKI, CA, STN</p>				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT				
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.		
X	CA, Vol. 135, 2001, CAN 135:283141, RN67213-84-7 和 335131-26-5 & Biological & Pharmaceutical Bulletin, Vol. 24, No.7, P860-862, 2001, Kita, Tetsuya et al." Thymidine phosphorylase inhibitors with a homophthalimide skeleton."	1-2		
X	CA, Vol. 132, 2000, CAN 132:190817, RN 161426-83-1、161426-85-3 和 20863-88-1 & Pest Manage. Sci., Vol. 56, No.2, P120-126, 2000, Mitchell, Glynn et al."3,4(2H)- isoquinolinediones: evaluation of amino-substituted derivatives as redox mediator herbicides."	1-2		
X	Tetrahedron, 1999, Vol. 55, No.30, P9185-9204, Ling, Ke-Qing et al, " On the reactions of 1,3-isoquinolinediones with singlet oxygen"; P9187, Table 1, Compound 6a-6j	1-2		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.				
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; border: none;"> * Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed </td> <td style="width: 50%; border: none;"> "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family </td> </tr> </table>			* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family			
Date of the actual completion of the international search <p style="text-align: center;">09.Aug.2004(09.08.2004)</p>		Date of mailing of the international search report <p style="text-align: center;">02.SEP.2004 (02.09.2004)</p>		
Name and mailing address of the ISA/ 6, Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, 100088, Beijing, China Facsimile No. 86-10-62019451		Authorized officer <div style="text-align: center;">  Li Jie </div> Telephone No. 86-10-62085623		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT


International application No.

PCT/CN2004/000567

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CA, Vol. 131, 2000, CAN 131:181047, RN240115-20-2、240115-21-3、240115-23-5、240115-24-6、240115-25-7、240115-26-8、240115-28-0、240115-29-1、240115-30-4、240115-31-5、240115-32-6、240115-34-8 & Farmaco, 1999, Vol. 54, No. 6, P339-345, Mazza, Marco et al: "Herbicidal activity of 2-substituted 1,3,4-(2H)-isoquinolinetriones"	1-2
X	CA, Vol. 128, 1999, CAN 128: 321547, RN 206664-04-2 和 206664-05-3 以及 Tetrahedron Letters, 1998, Vol. 39, No. 16, P2381-2384, Ke-Qing, Ling et al: "Dye-sensitized photooxygenations of 1,3-isoquinolinediones."	1-2
X	CA, Vol. 97, 1999, CAN 97: 6594, RN21640-33-5、82083-45-2 和 74826-28-1 以及 Tetrahedron, 1981, Vol. 37, No. 24, P4321-6 ;Pollers-Wieers, C. et al: "The use of isoquinolinetriones in the synthesis of benzo[c]phenanthridine alkaloids"	1-2
X	Tetrahedron, 1980, Vol. 36, No. 7, P943-50; Vekemans, Jozef et al : "A new path to 1,3,4(2H)-isoquinolinetriones and substituted isoindolinones."; P944, Table	1-2
X	Journal of Heterocyclic Chemistry, (1968), 5(4), 545-7; Buu-Hoi, N. P. et al: "Phthalonimides (1,3,4-trioxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines) of potential biological interest"; P546, Table II	1-2

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2004/000567

<p>A. 主题的分类</p> <p style="text-align: center;">C07D217/04 A61P25/00 A61P25/28</p> <p>按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类</p>											
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p style="text-align: center;">IPC7 C07D A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p style="text-align: center;">EPODOC, WPI, PAJ, CPRS, CNKI, CA, STN</p>											
<p>C. 相关文件</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">类 型*</th> <th style="width: 60%;">引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th style="width: 30%;">相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">X</td> <td> CA(美国化学文摘), 第 135 卷, 2001 年出版(美国俄亥俄州哥伦布市美国化学会), 文摘号 135:283141, RN(化学物质号) 67213-84-7 和 335131-26-5 以及 Biological & Pharmaceutical Bulletin, 第 24 卷第 7 期, P860-862, 2001 年, Kita, Tetsuya et al: "Thymidine phosphorylase inhibitors with a homophthalimide skeleton." </td> <td style="text-align: center;">1-2</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">X</td> <td> CA(美国化学文摘), 第 132 卷, 2000 年出版(美国俄亥俄州哥伦布市美国化学会), 文摘号 132:190817, RN(化学物质号) 161426-83-1、161426-85-3 和 20863-88-1 以及 Pest Manage. Sci., 第 56 卷第 2, P120-126, 2000 年, Mitchell, Glynn et al: "3,4(2H)-isoquinolinetriones: evaluation of amino-substituted derivatives as redox mediator herbicides." </td> <td style="text-align: center;">1-2</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	CA(美国化学文摘), 第 135 卷, 2001 年出版(美国俄亥俄州哥伦布市美国化学会), 文摘号 135:283141, RN(化学物质号) 67213-84-7 和 335131-26-5 以及 Biological & Pharmaceutical Bulletin, 第 24 卷第 7 期, P860-862, 2001 年, Kita, Tetsuya et al: "Thymidine phosphorylase inhibitors with a homophthalimide skeleton."	1-2	X	CA(美国化学文摘), 第 132 卷, 2000 年出版(美国俄亥俄州哥伦布市美国化学会), 文摘号 132:190817, RN(化学物质号) 161426-83-1、161426-85-3 和 20863-88-1 以及 Pest Manage. Sci., 第 56 卷第 2, P120-126, 2000 年, Mitchell, Glynn et al: "3,4(2H)-isoquinolinetriones: evaluation of amino-substituted derivatives as redox mediator herbicides."	1-2
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求									
X	CA(美国化学文摘), 第 135 卷, 2001 年出版(美国俄亥俄州哥伦布市美国化学会), 文摘号 135:283141, RN(化学物质号) 67213-84-7 和 335131-26-5 以及 Biological & Pharmaceutical Bulletin, 第 24 卷第 7 期, P860-862, 2001 年, Kita, Tetsuya et al: "Thymidine phosphorylase inhibitors with a homophthalimide skeleton."	1-2									
X	CA(美国化学文摘), 第 132 卷, 2000 年出版(美国俄亥俄州哥伦布市美国化学会), 文摘号 132:190817, RN(化学物质号) 161426-83-1、161426-85-3 和 20863-88-1 以及 Pest Manage. Sci., 第 56 卷第 2, P120-126, 2000 年, Mitchell, Glynn et al: "3,4(2H)-isoquinolinetriones: evaluation of amino-substituted derivatives as redox mediator herbicides."	1-2									
<p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在 C 栏的续页中列出。 <input type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>											
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “&” 同族专利的文件</p> <p>“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p>											
<p>国际检索实际完成的日期 09.8 月 2004 (09.08.2004)</p>		<p>国际检索报告邮寄日期 02. 9 月 2004 (02. 09. 2004)</p>									
<p>中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088 传真号: (86-10)62019451</p>		<p>受权官员</p> <div style="text-align: center;">  <p>李捷捷</p> </div> <p>电话号码: (86-10)62085623</p>									

C(续). 相关文件

类型	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	Tetrahedron, 1999年, 第55卷第30期, P9185-9204, Ling, Ke-Qing et al, "On the reactions of 1,3-isoquinolinediones with singlet oxygen"; 第9187页 表格1中的化合物6a-6j	1-2
X	CA(美国化学文摘), 第131卷, 2000年出版(美国俄亥俄州哥伦布市美国化学会), 文摘号131:181047, RN(化学物质号)240115-20-2、240115-21-3、240115-23-5、240115-24-6、240115-25-7、240115-26-8、240115-28-0、240115-29-1、240115-30-4、240115-31-5、240115-32-6、240115-34-8 以及 Farmaco, 1999年, 第54卷第6期, P339-345, Mazza, Marco et al. "Herbicidal activity of 2-substituted 1,3,4-(2H)-isoquinolinetrienes"	1-2
X	CA(美国化学文摘), 第128卷, 1999年出版(美国俄亥俄州哥伦布市美国化学会), 文摘号128: 321547, RN(化学物质号)206664-04-2和206664-05-3 以及 Tetrahedron Letters, 1998年, 第39卷16期, P2381-2384, Ke-Qing, Ling et al: "Dye-sensitized photooxygenations of 1,3-isoquinolinediones."	1-2
X	CA(美国化学文摘), 第97卷, 1999年出版(美国俄亥俄州哥伦布市美国化学会), 文摘号97: 6594, RN(化学物质号)21640-33-5、82083-45-2和74826-28-1 以及 Tetrahedron, 1981年, 第37卷24期, P4321-6; Pollers-Wieers, C. et al: "The use of isoquinolinetrienes in the synthesis of benzo[c]phenanthridine alkaloids"	1-2
X	Tetrahedron, 1980年, 第36卷第7期, P943-50; Vekemans, Jozef et al: "A new path to 1,3,4(2H)-isoquinolinetrienes and substituted isoindolinones."; 第944页表格	1-2
X	Journal of Heterocyclic Chemistry, (1968), 5(4), 545-7; Buu-Hoi, N. P. et al: "Phthalonimides (1,3,4-trioxo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines) of potential biological interest"; 第546页表格II	1-2